

GLP-1-Fc-FGF21 双靶融合蛋白组合物和注射液及其用途

CROSS-REFERENCE TO RELATED APPLICATION

This application claims the priority and benefits of Chinese Patent Application No. 202310741972.5, filed with the State Intellectual Property Office of China on June 20, 2023, which is incorporated herein by reference in its entirety.

技术领域

本发明属于生物制药技术领域，具体地，本发明涉及一种 GLP-1-Fc-FGF21 双靶融合蛋白组合物和注射液及其用途，更具体地，本发明涉及一种组合物和注射液及其用途和注射装置或容器。

背景技术

胰高血糖素样肽-1(glucagon-like peptide-1, GLP-1)是一种由小肠 L 细胞分泌的肠促胰岛素，其可以刺激胰岛 β 细胞分泌胰岛素，从而维持病患体内胰岛素的平衡。GLP-1 通过胰岛素间接起作用，仅对二型糖尿病起作用，限制了其应用范围及效果；同时有报道指出 GLP-1 存在潜在的致甲状腺癌风险。

FGF21 属于 FGF 家族(成纤维细胞生长因子, FGFs)成员之一。FGF21 可以促进脂肪细胞对葡萄糖的吸收，增强胰岛素敏感性，同时与胰岛素相比，FGF21 不会引起低血糖等副作用，更能有效保护 β 胰岛细胞，促进胰岛 β 细胞的再生与修复，而且由于没有促分裂活性，也不会导致潜在的肿瘤风险。FGF21 有望成为治疗 1 型糖尿病的药物。此外，FGF21 也有很好的降脂作用，是一个很有潜力的降脂药。

GLP-1-Fc-FGF21 双靶融合蛋白可用于治疗代谢性疾病，例如糖尿病、高血脂、肥胖和与脂肪肝相关的疾病。但该双靶融合蛋白在储存过程中会发生物理变化和化学变化，例如变性、聚集、沉淀或片段化等现象，从而影响双靶融合蛋白储存过程中的稳定性。

因此，亟需开发一种稳定性高的 GLP-1-Fc-FGF21 双靶融合蛋白组合物。

发明内容

本发明旨在至少在一定程度上解决现有技术中存在的技术问题至少之一。为此，本发明提供了一种 GLP-1-Fc-FGF21 双靶融合蛋白组合物，该组合物的稳定性强，可延长产品的货架期。

在本发明的一个方面，本发明提出了一种组合物。根据本发明的实施例，所述组合物包括：GLP-1-Fc-FGF21 融合蛋白和缓冲液。本发明的组合物中，通过缓冲液的加入，可有效控制可见异物以及聚集体的产生，提高 GLP-1-Fc-FGF21 融合蛋白的稳定性，从而可延长产品的货架期。

根据本发明的实施例，所述 GLP-1-Fc-FGF21 融合蛋白包含如 SEQ ID NO:1~12 所示的氨基酸序列。

根据本发明的实施例，所述 GLP-1-Fc-FGF21 融合蛋白在所述组合物中的浓度为 1~100mg/mL。

在本发明的一些可选实施例中，所述 GLP-1-Fc-FGF21 融合蛋白在所述组合物中的浓度为 2~80mg/mL。

在本发明的一些可选实施例中，所述 GLP-1-Fc-FGF21 融合蛋白在所述组合物中的浓度为 2~70mg/mL。

在本发明的一些可选实施例中，所述 GLP-1-Fc-FGF21 融合蛋白在所述组合物中的浓度为 5~70mg/mL。

在本发明的一些可选实施例中，所述 GLP-1-Fc-FGF21 融合蛋白在所述组合物中的浓度为 2~65mg/mL。

在本发明的一些可选实施例中，所述 GLP-1-Fc-FGF21 融合蛋白在所述组合物中的浓度为 2~60mg/mL。

在本发明的一些可选实施例中，所述 GLP-1-Fc-FGF21 融合蛋白在所述组合物中的浓度为 2~55mg/mL。

在本发明的一些可选实施例中，所述 GLP-1-Fc-FGF21 融合蛋白在所述组合物中的浓度为 10~65mg/mL。

在本发明的一些可选实施例中，所述 GLP-1-Fc-FGF21 融合蛋白在所述组合物中的浓度为 20~60mg/mL。

根据本发明的实施例，所述组合物的 pH 值为 6.2~8.0，优选 6.4~8.0。

根据本发明的实施例，所述缓冲液包括组氨酸缓冲液、柠檬酸盐缓冲液、磷酸盐缓冲液和 Tris 缓冲液中的至少之一。

根据本发明的实施例，所述缓冲液包括组氨酸缓冲液或柠檬酸盐缓冲液。

根据本发明的实施例，所述缓冲液在所述组合物中的浓度为 5~30mM。

根据本发明的实施例，所述缓冲液在所述组合物中的浓度为 5~25mM。

根据本发明的实施例，所述缓冲液在所述组合物中的浓度为 8~25mM。

根据本发明的实施例，所述缓冲液在所述组合物中的浓度为 5~20mM。

根据本发明的实施例，所述缓冲液在所述组合物中的浓度为 8~12mM。

根据本发明的实施例，所述缓冲液在所述组合物中的浓度为 10~20mM。

根据本发明的实施例，所述组合物进一步包括渗透压调节剂、表面活性剂、防腐剂和金属螯合剂的至少之一。

根据本发明的实施例，所述渗透压调节剂包括甘露醇、蔗糖、氯化钠和海藻糖中的至少之一。

根据本发明的实施例，所述渗透压调节剂在所述组合物中的浓度为 30~100 mg/mL 或 1~10 mg/mL。

根据本发明的实施例，所述表面活性剂包括聚山梨酯 80、聚山梨酯 20 和泊洛沙姆 188 中的至少之一。

根据本发明的实施例，所述表面活性剂在所述组合物中的浓度为 0.1~10 mg/mL。

根据本发明的实施例，所述表面活性剂在所述组合物中的浓度为 0.1~1.5 mg/mL。

根据本发明的实施例，所述表面活性剂在所述组合物中的浓度为 6~10mg/mL。

根据本发明的实施例，所述表面活性剂在所述组合物中的浓度为 0.1~0.7 mg/mL。

根据本发明的实施例，所述防腐剂为苯酚、间甲酚中的至少之一。

根据本发明的实施例，所述防腐剂在所述组合物中的浓度为 0.1~10 mg/mL，优选为 0.1~5.0 mg/mL 较优选为 1.0~5.0 mg/mL。

根据本发明的实施例，所述金属螯合剂为依地酸二钠、依地酸钙钠中的至少之一。

根据本发明的实施例，所述金属螯合剂在所述组合物中的浓度为 0.01~1 mg/mL，优选为 0.05~0.5 mg/mL。

根据本发明的实施例，所述缓冲液为组氨酸缓冲液，所述 GLP-1-Fc-FGF21 融合蛋白在所述组合物中的浓度为 25~100 mg/mL，优选为 25~95mg/mL、25~90mg/mL、25~85mg/mL。

根据本发明的实施例，所述 GLP-1-Fc-FGF21 融合蛋白在所述组合物中的浓度为 25~80 mg/mL，所述缓冲液为组氨酸缓冲液。

根据本发明的实施例，所述 GLP-1-Fc-FGF21 融合蛋白在所述组合物中的浓度为 25~55mg/mL，所述缓冲液为组氨酸缓冲液。

根据本发明的实施例，所述组氨酸缓冲液在所述组合物中的浓度为 5~30mM。

根据本发明的实施例，所述组氨酸缓冲液在所述组合物中的浓度为 5~25mM。

根据本发明的实施例，所述组氨酸缓冲液在所述组合物中的浓度为 8~25mM。

根据本发明的实施例，所述组氨酸缓冲液在所述组合物中的浓度为 8~20mM。

根据本发明的实施例，所述组氨酸缓冲液在所述组合物中的浓度为 10~20mM。

根据本发明的实施例，所述组氨酸缓冲液在所述组合物中的浓度为 8~12mM。

根据本发明的实施例，所述组合物的 pH 值为 6.7~7.5，优选为 6.9~7.5。

根据本发明的实施例，所述渗透压调节剂为甘露醇，所述渗透压调节剂在所述组合物中的浓度为 30~50 mg/mL；或者所述渗透压调节剂为蔗糖，所述渗透压调节剂在所述组合物中的浓度为 60~100 mg/mL，优选 80~100 mg/mL；或者所述渗透压调节剂为海藻糖，所述渗透压调节剂在所述组合物中的浓度为 40~100 mg/mL，优选 40~70 mg/mL，更优选 50~70 mg/mL。

根据本发明的实施例，所述表面活性剂为聚山梨酯 80，所述表面活性剂在所述组合物中的浓度为 0.1~2 mg/mL，优选为 0.1~1.5 mg/mL，优选为 0.4~1.3 mg/mL；或者所述表面活性剂为聚山梨酯 20，所述表面活性剂在所述组合物中的浓度为 0.1~1.5 mg/mL，优选为 0.1~0.5 mg/mL。

根据本发明的实施例，所述 GLP-1-Fc-FGF21 融合蛋白在所述组合物中的浓度为 2~25mg/mL，所述缓冲液为柠檬酸盐缓冲液。

根据本发明的实施例，所述柠檬酸盐缓冲液在所述组合物中的浓度为 5~30 mM。

根据本发明的实施例，所述柠檬酸盐缓冲液在所述组合物中的浓度为 5~25 mM。

根据本发明的实施例，所述柠檬酸盐缓冲液在所述组合物中的浓度为 8~25 mM。

根据本发明的实施例，所述柠檬酸盐缓冲液在所述组合物中的浓度为 8~20 mM。

根据本发明的实施例，所述柠檬酸盐缓冲液在所述组合物中的浓度为 10~20 mM。

根据本发明的实施例，所述柠檬酸盐缓冲液在所述组合物中的浓度为 8~12 mM。

根据本发明的实施例，所述组合物的 pH 值为 6.4~8.0。

根据本发明的实施例，所述渗透压调节剂为甘露醇，所述渗透压调节剂在所述组合物中的浓度为 30~50 mg/mL；或者所述渗透压调节剂为蔗糖，所述渗透压调节剂在所述组合物中的浓度为 60~100 mg/mL，优选 80~100 mg/mL；或者所述渗透压调节剂为海藻糖，所述渗透压调节剂在所述组合物中的浓度为 40~100 mg/mL，优选 40~70 mg/mL，更优选 50~70 mg/mL。

根据本发明的实施例，所述渗透压调节剂为氯化钠，所述渗透压调节剂在所述组合物中的浓度为 1~10 mg/mL，优选 3~9mg/mL。

根据本发明的实施例，所述表面活性剂包括聚山梨酯 80、聚山梨酯 20 和泊洛沙姆 188 中的至少之一，优选为聚山梨酯 80。

根据本发明的实施例，所述表面活性剂在所述组合物中的浓度为 0.1~10.0 mg/mL。

根据本发明的实施例，所述表面活性剂在所述组合物中的浓度为 0.1~1.5 mg/mL。

根据本发明的实施例，所述表面活性剂在所述组合物中的浓度为 0.1~1.0 mg/mL。

根据本发明的实施例，所述表面活性剂在所述组合物中的浓度为 6.0~10.0 mg/mL。

根据本发明的实施例，所述表面活性剂在所述组合物中的浓度为 0.1~0.5 mg/mL。

根据本发明的实施例，所述表面活性剂为泊洛沙姆 188，所述表面活性剂在所述组合物中的浓度为 6~10 mg/mL；或者所述表面活性剂为聚山梨酯 80 或聚山梨酯 20，所述表面活性剂在所述组合物中的浓

度为 0.1~1.5 mg/mL, 优选为 0.1~1.0 mg/mL 或 0.1~0.5 mg/mL。

根据本发明的实施例, 所述组合物的剂型为注射剂。

在本发明的另一方面, 本发明提出了一种注射液。根据本发明的实施例, 所述注射液包括: GLP-1-Fc-FGF21 融合蛋白、组氨酸缓冲液、甘露醇和任选地依地酸二钠或依地酸钙钠, 以及聚山梨酯 80 或聚山梨酯 20; 所述 GLP-1-Fc-FGF21 融合蛋白具有如 SEQ ID NO:1~12 任一项所示的氨基酸序列, 所述 GLP-1-Fc-FGF21 融合蛋白在所述注射液中的浓度为 25~100 mg/mL; 所述组氨酸缓冲液在所述注射液中的浓度为 8~25 mM; 所述甘露醇在所述注射液中的浓度为 35~45 mg/mL; 所述聚山梨酯 80 在所述注射液中的浓度为 0.4~1.3 mg/mL, 或者所述聚山梨酯 20 在所述注射液中的浓度为 0.1~0.5 mg/mL; 所述金属螯合剂在所述注射液中的浓度为 0.05~0.5 mg/mL; 所述注射液的 pH 值为 6.9~7.5。本发明的注射液可有效控制可见异物的产生, 可提高融合蛋白的物理稳定性和化学稳定性, 从而可降低潜在的安全性风险以及延长的货架期。

根据本发明的实施例, 所述的注射液不包含依地酸二钠或依地酸钙钠。

在本发明的另一方面, 本发明提出了一种注射液。根据本发明的实施例, 所述注射液包括: GLP-1-Fc-FGF21 融合蛋白、组氨酸缓冲液、甘露醇和任选地依地酸二钠或依地酸钙钠, 以及聚山梨酯 80 或聚山梨酯 20; 所述 GLP-1-Fc-FGF21 融合蛋白具有如 SEQ ID NO:1~12 任一项所示的氨基酸序列, 所述 GLP-1-Fc-FGF21 融合蛋白在所述注射液中的浓度为 25~95 mg/mL、25~90 mg/mL、25~85 mg/mL、25~80 mg/mL、25~75 mg/mL、25~70 mg/mL、25~65 mg/mL、25~60 mg/mL、25~55 mg/mL、或 25~50 mg/mL; 所述组氨酸缓冲液在所述组合物中的浓度为 8~25 mM; 所述甘露醇在所述组合物中的浓度为 35~45 mg/mL; 所述聚山梨酯 80 在所述组合物中的浓度为 0.4~1.3 mg/mL, 或者所述聚山梨酯 20 在所述组合物中的浓度为 0.1~0.5 mg/mL; 所述金属螯合剂在所述组合物中的浓度为 0.05~0.5 mg/mL; 所述注射液的 pH 值为 6.9~7.5。本发明的注射液可有效控制可见异物的产生, 可提高融合蛋白的物理稳定性和化学稳定性, 从而可降低潜在的安全性风险以及延长的货架期。

根据本发明的实施例, 所述的注射液不包含依地酸二钠或依地酸钙钠。

在本发明的另一方面, 本发明提出了一种注射液。根据本发明的实施例, 所述注射液包括: GLP-1-Fc-FGF21 融合蛋白、组氨酸缓冲液、甘露醇和任选地依地酸二钠或依地酸钙钠, 以及聚山梨酯 80 或聚山梨酯 20; 所述 GLP-1-Fc-FGF21 融合蛋白具有如 SEQ ID NO:1 所示的氨基酸序列, 所述 GLP-1-Fc-FGF21 融合蛋白在所述注射液中的浓度为 25~50 mg/mL; 所述组氨酸缓冲液在所述注射液中的浓度为 10~20 mM; 所述甘露醇在所述注射液中的浓度为 35~45 mg/mL; 所述聚山梨酯 80 在所述注射液中的浓度为 0.4~1.3 mg/mL, 或者所述聚山梨酯 20 在所述注射液中的浓度为 0.1~0.5 mg/mL; 所述金属螯合剂在所述注射液中的浓度为 0.05~0.5 mg/mL; 所述注射液的 pH 值为 6.9~7.5。本发明的注射液可有效控制可见异物的产生, 可提高融合蛋白的物理稳定性和化学稳定性, 从而可降低潜在的安全性风险以及延长的货架期。

根据本发明的实施例, 所述的注射液不包含依地酸二钠或依地酸钙钠。

在本发明的另一方面, 本发明提出了一种注射液。根据本发明的实施例, 所述注射液包括: GLP-1-Fc-FGF21 融合蛋白, 组氨酸缓冲液, 蔗糖或海藻糖, 和任选地依地酸二钠或依地酸钙钠, 以及聚山梨酯 80 或聚山梨酯 20; 所述 GLP-1-Fc-FGF21 融合蛋白包含如 SEQ ID NO:1~12 任一项所示的氨基酸序列, 所述 GLP-1-Fc-FGF21 融合蛋白在所述注射液中的浓度为 25~100 mg/mL; 所述组氨酸缓冲液在所述注射液中的浓度为 8~25 mM; 所述蔗糖在所述注射液中的浓度为 85~95 mg/mL 或所述海藻糖在所述注射液中的浓度为 55~65 mg/mL; 所述聚山梨酯 80 在所述注射液中的浓度为 0.4~1.3 mg/mL, 或者所述聚山梨酯 20 在所述注射液中的浓度为 0.1~0.5 mg/mL; 所述注射液的 pH 值为 6.9~7.5。本发明的注射

液可有效控制可见异物的产生，可提高融合蛋白的物理稳定性和化学稳定性，从而可降低潜在的安全性风险以及延长的货架期。

根据本发明的实施例，所述的注射液不包含依地酸二钠或依地酸钙钠。

在本发明的另一方面，本发明提出了一种注射液。根据本发明的实施例，根据本发明的实施例，所述注射液包括：GLP-1-Fc-FGF21 融合蛋白、组氨酸缓冲液、蔗糖或海藻糖，和任选地依地酸二钠或依地酸钙钠，以及聚山梨酯 80 或聚山梨酯 20；所述 GLP-1-Fc-FGF21 融合蛋白具有如 SEQ ID NO:1~12 任一项所示的氨基酸序列，所述 GLP-1-Fc-FGF21 融合蛋白在所述注射液中的浓度为 25~95 mg/mL、25~90 mg/mL、25~85 mg/mL、25~80 mg/mL、25~75 mg/mL、25~70 mg/mL、25~65 mg/mL、25~60 mg/mL、25~55 mg/mL、或 25~50 mg/mL；所述组氨酸缓冲液在所述组合物中的浓度为 8~20 mM；所述蔗糖在所述组合物中的浓度为 85~95 mg/mL；所述海藻糖在所述注射液中的浓度为 55~65 mg/mL；所述聚山梨酯 80 在所述组合物中的浓度为 0.4~1.3 mg/mL，或者所述聚山梨酯 20 在所述组合物中的浓度为 0.1~0.5 mg/mL；所述注射液的 pH 值为 6.9~7.5。本发明的注射液可有效控制可见异物的产生，可提高融合蛋白的物理稳定性和化学稳定性，从而可降低潜在的安全性风险以及延长的货架期。

根据本发明的实施例，所述的注射液不包含依地酸二钠或依地酸钙钠。

在本发明的另一方面，本发明提出了一种注射液。根据本发明的实施例，所述注射液包括：GLP-1-Fc-FGF21 融合蛋白、组氨酸缓冲液、蔗糖，以及聚山梨酯 80 或聚山梨酯 20；所述 GLP-1-Fc-FGF21 融合蛋白包含如 SEQ ID NO:1 所示的氨基酸序列，所述 GLP-1-Fc-FGF21 融合蛋白在所述注射液中的浓度为 25~50 mg/mL；所述组氨酸缓冲液在所述注射液中的浓度为 10~20 mM；所述蔗糖在所述注射液中的浓度为 85~95 mg/mL；所述聚山梨酯 80 在所述注射液中的浓度为 0.4~1.3 mg/mL，或者所述聚山梨酯 20 在所述注射液中的浓度为 0.1~0.5 mg/mL；所述注射液的 pH 值为 6.9~7.5。本发明的注射液可有效控制可见异物的产生，可提高融合蛋白的物理稳定性和化学稳定性，从而可降低潜在的安全性风险以及延长的货架期。

根据本发明的实施例，所述的注射液不包含依地酸二钠或依地酸钙钠。

在本发明的另一方面，本发明提出了一种注射液。根据本发明的实施例，所述注射液包括：GLP-1-Fc-FGF21 融合蛋白、组氨酸缓冲液、海藻糖，以及聚山梨酯 80 或聚山梨酯 20；所述 GLP-1-Fc-FGF21 融合蛋白包含如 SEQ ID NO:1 所示的氨基酸序列，所述 GLP-1-Fc-FGF21 融合蛋白在所述注射液中的浓度为 25~50 mg/mL；所述组氨酸缓冲液在所述注射液中的浓度为 10~20 mM；所述海藻糖在所述注射液中的浓度为 55~65 mg/mL；所述聚山梨酯 80 在所述注射液中的浓度为 0.4~1.3 mg/mL，或者所述聚山梨酯 20 在所述注射液中的浓度为 0.1~0.5 mg/mL；所述注射液的 pH 值为 6.9~7.5。本发明的注射液可有效控制可见异物的产生，可提高融合蛋白的物理稳定性和化学稳定性，从而可降低潜在的安全性风险以及延长的货架期。

根据本发明的实施例，所述的注射液不包含依地酸二钠或依地酸钙钠。

在本发明的另一方面，本发明提出了一种注射液。根据本发明的实施例，所述注射液包括：GLP-1-Fc-FGF21 融合蛋白、柠檬酸盐缓冲液、蔗糖或海藻糖，和任选地依地酸二钠或依地酸钙钠，以及聚山梨酯 80 或聚山梨酯 20；所述 GLP-1-Fc-FGF21 融合蛋白包含如 SEQ ID NO:1~12 任一项所示的氨基酸序列，所述 GLP-1-Fc-FGF21 融合蛋白在所述注射液中的浓度为 25~100 mg/mL，优选为 25~95 mg/mL、25~90 mg/mL、25~85 mg/mL、25~80 mg/mL、25~75 mg/mL、25~70 mg/mL、25~65 mg/mL、25~60 mg/mL、25~55 mg/mL、25~50 mg/mL；所述柠檬酸盐缓冲液在所述注射液中的浓度为 8~25mM，优选为 10~20 mM；所述蔗糖在所述注射液中的浓度为 85~95 mg/mL；所述海藻糖在所述注射液中的浓度为 55~65 mg/mL；所述聚山梨酯 80 在所述注射液中的浓度为 0.4~1.3 mg/mL，或者所述聚山梨酯 20

在所述注射液中的浓度为 0.1~0.5mg/mL；所述注射液的 pH 值为 6.9~7.5。本发明的注射液可有效控制可见异物的产生，可提高融合蛋白的物理稳定性和化学稳定性，从而可降低潜在的安全性风险以及延长的货架期。

根据本发明的实施例，所述的注射液不包含依地酸二钠或依地酸钙钠。

在本发明的另一方面，本发明提出了一种注射液。根据本发明的实施例，所述注射液包括：GLP-1-Fc-FGF21 融合蛋白、柠檬酸盐缓冲液、甘露醇和任选地依地酸二钠或依地酸钙钠，以及聚山梨酯 80 或聚山梨酯 20；所述 GLP-1-Fc-FGF21 融合蛋白包含如 SEQ ID NO:1~12 任一项所示的氨基酸序列，所述 GLP-1-Fc-FGF21 融合蛋白在所述注射液中的浓度为 25~100 mg/mL，优选为 25~95 mg/mL、25~90 mg/mL、25~85 mg/mL、25~80 mg/mL、25~75 mg/mL、25~70 mg/mL、25~65 mg/mL、25~60 mg/mL、25~55 mg/mL、25~50 mg/mL；所述柠檬酸盐缓冲液在所述注射液中的浓度为 8~25mM，优选为 10~20 mM；所述甘露醇在所述注射液中的浓度为 35~45 mg/mL；所述聚山梨酯 80 在所述注射液中的浓度为 0.4~1.5 mg/mL、或 0.4~1.3 mg/mL，或者所述聚山梨酯 20 在所述注射液中的浓度为 0.1~0.5 mg/mL；所述金属螯合剂在所述注射液中的浓度为 0.05~0.5 mg/mL；所述注射液的 pH 值为 6.9~7.5。本发明的注射液可有效控制可见异物的产生，可提高融合蛋白的物理稳定性和化学稳定性，从而可降低潜在的安全性风险以及延长的货架期。

根据本发明的实施例，所述的注射液不包含依地酸二钠或依地酸钙钠。在本发明的另一方面，本发明提出了一种注射液。根据本发明的实施例，所述注射液包括：GLP-1-Fc-FGF21 融合蛋白、柠檬酸盐缓冲液、甘露醇、聚山梨酯 80 和任选地依地酸二钠或依地酸钙钠；所述 GLP-1-Fc-FGF21 融合蛋白包含如 SEQ ID NO:1~12 任一项所示的氨基酸序列，所述 GLP-1-Fc-FGF21 融合蛋白在所述注射液中的浓度为 3~25 mg/mL；所述柠檬酸盐缓冲液在所述注射液中的浓度为 5~20 mM；所述甘露醇在所述注射液中的浓度为 40~50 mg/mL；所述聚山梨酯 80 在所述注射液中的浓度为 0.1~1.5 mg/mL；所述金属螯合剂在所述注射液中的浓度为 0.05~0.5 mg/mL；所述注射液的 pH 值为 6.4~8.0。本发明的注射液可有效控制可见异物的产生，可提高融合蛋白的物理稳定性和化学稳定性，从而可降低潜在的安全性风险以及延长的货架期。

根据本发明的实施例，所述的注射液不包含依地酸二钠或依地酸钙钠。

在本发明的另一方面，本发明提出了一种注射液。根据本发明的实施例，所述注射液包括：GLP-1-Fc-FGF21 融合蛋白、柠檬酸盐缓冲液、甘露醇、聚山梨酯 80 和任选地依地酸二钠或依地酸钙钠；所述 GLP-1-Fc-FGF21 融合蛋白包含如 SEQ ID NO:1~12 任一项所示的氨基酸序列，所述 GLP-1-Fc-FGF21 融合蛋白在所述注射液中的浓度为 3~25 mg/mL；所述柠檬酸盐缓冲液在所述注射液中的浓度为 8~20 mM、10~20 mM、或 10~15 mM；所述甘露醇在所述注射液中的浓度为 40~50 mg/mL；所述聚山梨酯 80 在所述注射液中的浓度为 0.1~0.5 mg/mL；所述金属螯合剂在所述注射液中的浓度为 0.05~0.5 mg/mL；所述注射液的 pH 值为 6.4~8.0。本发明的注射液可有效控制可见异物的产生，可提高融合蛋白的物理稳定性和化学稳定性，从而可降低潜在的安全性风险以及延长的货架期。

根据本发明的实施例，所述的注射液不包含依地酸二钠或依地酸钙钠。

在本发明的另一方面，本发明提出了一种注射液。根据本发明的实施例，所述注射液包括：GLP-1-Fc-FGF21 融合蛋白、柠檬酸盐缓冲液、甘露醇、聚山梨酯 80 和任选地依地酸二钠或依地酸钙钠；所述 GLP-1-Fc-FGF21 融合蛋白包含如 SEQ ID NO:1 所示的氨基酸序列，所述 GLP-1-Fc-FGF21 融合蛋白在所述注射液中的浓度为 3~25 mg/mL；所述柠檬酸盐缓冲液在所述注射液中的浓度为 8~20 mM、10~20 mM、或 10~15 mM；所述甘露醇在所述注射液中的浓度为 40~50 mg/mL；所述聚山梨酯 80 在所述注射液中的浓度为 0.1~0.5 mg/mL；所述金属螯合剂在所述注射液中的浓度为 0.05~0.5 mg/mL；所述

注射液的 pH 值为 6.4~8.0。本发明的注射液可有效控制可见异物的产生，可提高融合蛋白的物理稳定性和化学稳定性，从而可降低潜在的安全性风险以及延长的货架期。

根据本发明的实施例，所述的注射液不包含依地酸二钠或依地酸钙钠。

在本发明的另一方面，本发明提出了一种注射液。根据本发明的实施例，所述注射液包括：GLP-1-Fc-FGF21 融合蛋白、柠檬酸盐缓冲液、聚山梨酯 80 和任选地依地酸二钠或依地酸钙钠，以及蔗糖或海藻糖；所述 GLP-1-Fc-FGF21 融合蛋白包含如 SEQ ID NO:1~12 任一项所示的氨基酸序列，所述 GLP-1-Fc-FGF21 融合蛋白在所述注射液中的浓度为 3~25 mg/mL；所述柠檬酸盐缓冲液在所述注射液中的浓度为 5~20 mM；所述蔗糖在所述注射液中的浓度为 80~95 mg/mL；所述海藻糖在所述注射液中的浓度为 55~65 mg/mL；所述聚山梨酯 80 在所述注射液中的浓度为 0.1~1.5 mg/mL；所述注射液的 pH 值为 6.4~8.0。本发明的注射液可有效控制可见异物的产生，可提高融合蛋白的物理稳定性和化学稳定性，从而可降低潜在的安全性风险以及延长的货架期。

根据本发明的实施例，所述的注射液不包含依地酸二钠或依地酸钙钠。

在本发明的另一方面，本发明提出了一种注射液。根据本发明的实施例，所述注射液包括：GLP-1-Fc-FGF21 融合蛋白、柠檬酸盐缓冲液和聚山梨酯 80，以及蔗糖或海藻糖，和任选地依地酸二钠或依地酸钙钠；所述 GLP-1-Fc-FGF21 融合蛋白包含如 SEQ ID NO:1 所示的氨基酸序列，所述 GLP-1-Fc-FGF21 融合蛋白在所述注射液中的浓度为 3~25 mg/mL；所述柠檬酸盐缓冲液在所述注射液中的浓度为 8~20 mM、10~20 mM、或 10~15 mM；所述蔗糖在所述注射液中的浓度为 80~95 mg/mL；所述海藻糖在所述注射液中的浓度为 55~65 mg/mL；所述聚山梨酯 80 在所述注射液中的浓度为 0.1~0.5 mg/mL；所述注射液的 pH 值为 6.4~8.0。本发明的注射液可有效控制可见异物的产生，可提高融合蛋白的物理稳定性和化学稳定性，从而可降低潜在的安全性风险以及延长的货架期。

根据本发明的实施例，所述的注射液不包含依地酸二钠或依地酸钙钠。

在本申请的一个可选实施例中，上述多个方面的注射液还可以进一步包括防腐剂。

在本申请的一个可选实施例中，所述防腐剂至少选自苯酚、间甲酚、苯甲醇、苯氧基乙醇之一。

在本申请的一个可选实施例中，所述苯酚在组合物或注射液中的浓度为 0~7 mg/mL，优选 3~7mg/mL。

在本申请的一个可选实施例中，所述间甲酚在组合物或注射液中的浓度为 0~4 mg/mL，优选 2~4mg/mL。

在本发明的另一方面，本发明提出了一种前述的组合物或前述的注射液在制备药物中的用途，所述药物用于治疗/和/或预防代谢性疾病。

根据本发明的实施例，所述代谢性疾病包括糖尿病、高血脂、肥胖和与脂肪肝相关的疾病。

根据本发明的实施例，所述脂肪肝相关的疾病包括非酒精性脂肪性肝病、非酒精性脂肪性肝炎、肝纤维化和肝硬化。

在本发明的另一方面，本发明提出了一种注射装置或容器。根据本发明的实施例，所述注射装置或容器包括：前述的组合物或前述的注射液。

根据本发明的实施例，所述注射装置或容器包括选自容纳瓶和注射器中的至少之一。

根据本发明的实施例，所述注射器包括选自自动注射器和预填充注射器中的至少之一。

本发明的附加方面和优点将在下面的描述中部分给出，部分将从下面的描述中变得明显，或通过本发明的实践了解到。

附图说明

本发明的上述和/或附加的方面和优点从结合下面附图对实施例的描述中将变得明显和容易理解，其中：

- 图 1 为本发明实施例 1 的步骤 7 中不同制剂的高温 SEC-聚集体增长趋势图；
- 图 2 为本发明实施例 1 的步骤 7 中不同制剂的高温 RP-HPLC-纯度（总有关物质）增长趋势图。

具体实施方式

下面详细描述本发明的实施例。下面描述的实施例是示例性的，仅用于解释本发明，而不能理解为对本发明的限制。

需要说明的是，术语“第一”、“第二”仅用于描述目的，而不能理解为指示或暗示相对重要性或者隐含指明所指示的技术特征的数量。由此，限定有“第一”、“第二”的特征可以明示或者隐含地包括一个或者更多个该特征。进一步地，在本发明的描述中，除非另有说明，“多个”的含义是两个或两个以上。

在本文中所披露的范围的端点和任何值都不限于该精确的范围或值，这些范围或值应当理解为包含接近这些范围或值的值。对于数值范围来说，各个范围的端点值之间、各个范围的端点值和单独的点值之间，以及单独的点值之间可以彼此组合而得到一个或多个新的数值范围，这些数值范围应被视为在本文中具体公开。

在本文中，术语“包含”或“包括”为开放式表达，即包括本发明所指明的内容，但并不排除其他方面的内容。

在本文中，术语“任选地”、“任选的”或“任选”通常是指随后所述的事件或状况可以但未必发生，并且该描述包括其中发生该事件或状况的情况，以及其中未发生该事件或状况的情况。

在本文中，术语“治疗”是指用于获得期望的药理学和/或生理学效果。所述效果就完全或部分预防疾病或其症状而言可以是预防性的，和/或就部分或完全治愈疾病和/或疾病导致的不良作用而言可以是治疗性的。本文使用的“治疗”涵盖哺乳动物、特别是人的疾病，包括：(a)在容易患病但是尚未确诊得病的个体中预防疾病或病症发生；(b)抑制疾病，例如阻滞疾病发展；或(c)缓解疾病，例如减轻与疾病相关的症状。本文使用的“治疗”涵盖将组合物、注射液或药物给予个体以治疗、治愈、缓解、改善、减轻或抑制个体的疾病的任何用药，包括但不限于将含本文所述组合物或注射液的药物给予有需要的个体。

本发明提出了一种组合物和注射液及其用途和注射装置或容器，下面将分别对其进行详细描述。

组合物

在本发明的一个方面，本发明提出了一种组合物。根据本发明的实施例，所述组合物包括：GLP-1-Fc-FGF21 融合蛋白和缓冲液。本发明的组合物中，通过缓冲液的加入，可有效控制可见异物以及聚集体的产生，提高 GLP-1-Fc-FGF21 融合蛋白的稳定性，从而可延长产品的货架期。

在本发明的一些可选实施例中，所述 GLP-1-Fc-FGF21 融合蛋白具有如 SEQ ID NO:1~12 所示的氨基酸序列。

HGEGTFTSDVSSYLEEQAAKEFIAWLVKGGGGGGSGGGGSGGGGSESKYGPPCPPCPAPEAAGG
PSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSV
LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFY
PSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSL
SLSLGGGGGGSGGGGSGGGGSHPIPDSSPLLQFGGQVRQVYLYTDDAQQTEAHLEIREDDGTGGAADQS
PESLLQLKALKPGVIQILGVKTSRFLCQRPDGALYGLSHFDPEACSFRRERLLEDGYNVYQSEAHGLPLH

LPGNKSPHRDPAPRGPARFLPLPGLPPALPEPPGILAPQPPDVGSSDPLHMVGASQGLSPSYAS (SEQ ID NO:1);

HGEGTFTSDVSSYLEEQAAKEFIAWLKGGGGGGGSGGGGSGGGGSESKYGPPCPPCAPEAAGG
PSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSV
LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFY
PSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSL
SLSLGGGGGGSGGGGSGGGGSHPIPDSSPLLQFGGQVRQVYLYTDDAQQTEAHLEIREDDGTGGAADQS
PESLLQLKALKPGVIQILGVKTSRFLCQRPDGALYGLHFDPEACSFRRERLLEDGYNVYQSEAHGLPLH
LPGNKSPHRDPAPRGPARFLPLPGLPPALPEPPGILAPQPPDVGSSDPLHMVGGSQGLSPSYAS (SEQ ID NO:2);

HGEGTFTSDVSSYLEEQAAKEFIAWLKGGGGGGGSGGGGSGGGGSESKYGPPCPPCAPEAAGG
PSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSV
LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFY
PSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSL
SLSLGGGGGGSGGGGSGGGGSHPIPDSSPLLQFGGQVRQVYLYTDDAQQTEAHLEIREDDGTGGAADQS
PESLLQLKALKPGVIQILGVKTSRFLCQRPDGALYGLHFDPEACSFRRERLLEDGYNVYQSEAHGLPLH
LPGNKSPHRDPAPRGPAVFLPLPGLPPALPEPPGILAPQPPDVGSSDPLHMVGGSQGLSPSYAS (SEQ ID NO:3);

HGEGTFTSDVSSYLEEQAAKEFIAWLKGGGGGGGSGGGGSGGGGSESKYGPPCPPCAPEAAGG
PSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSV
LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFY
PSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSL
SLSLGGGGGGSGGGGSGGGGSHPIPDSSPLLQFGGQVRQVYLYTDDAQQTEAHLEIREDDGTGGAADQS
PESLLQLKALKPGVIQILGVKTSRFLCQRPDGALYGLHFDPEACSFRRERLLEDGYNVYQSEAHGLPLH
LPGNKSPHRDPAPRGPARFLPLPGLPPALPEPPGILAPQPPDVGSSDPLHMVGGSQGLSPSYES (SEQ ID NO:4);

HGEGTFTSDVSSYLEEQAAKEFIAWLKGGGGGGGSGGGGSGGGGSESKYGPPCPPCAPEAAGG
PSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSV
LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFY
PSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSL
SLSLGGGGGGSGGGGSGGGGSHPIPDSSPLLQFGGQVRQVYLYTDDAQQTECHLEIREDDGTVGCAADQS
PESLLQLKALKPGVIQILGVKTSRFLCQRPDGALYGLHFDPEACSFRRERLLEDGYNVYQSEAHGLPLH
LPGNKSPHRDPAPRGPARFLPLPGLPPALPEPPGILAPQPPDVGSSDPLHMVGASQGLSPSYAS (SEQ ID NO:5);

HGEGTFTSDVSSYLEEQAAKEFIAWLKGGGGGGGSGGGGSGGGGSESKYGPPCPPCAPEAAGG
PSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSV
LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFY
PSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSL
SLSLGGGGGGSGGGGSGGGGSHPIPDSSPLLQFGGQVRQVYLYTDDAQQTECHLEIREDDGTVGCAADQS
PESLLQLKALKPGVIQILGVKTSRFLCQRPDGALYGLHFDPEACSFRRERLLEDGYNVYQSEAHGLPLH

LPGNKSPHRDPAPRGPARFLPLPGLPPALPEPPGILAPQPPDVGSSDPLHMGGSQGLSPSYAS (SEQ ID NO:6);

HGEGTFTSDVSSYLEEQAAKEFIAWLKGGGGGGGSGGGGSGGGGSESKYGPPCPPCAPEAAGG
PSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSV
LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFY
PSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSL
SLSLGGGGGGSGGGGSGGGGSHPIPDSSPLLQFGGQVRQVYLYTDDAQQTEAHLEIREDDGTGGAADQS
PESLLQLKALKPGVIQILGVKTSRFLCQRPDGALYGLHFDPEACSFRRERLLEDGYNVYQSEAHGLPLH
LPGNKSPHRDPAPRGPARFLPLPGLPPALPEPPGILAPQPPDVGSSDPLHMGASQGLSPSYES (SEQ ID NO:7);

HGEGTFTSDVSSYLEEQAAKEFIAWLKGGGGGGGSGGGGSGGGGSESKYGPPCPPCAPEAAGG
PSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSV
LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFY
PSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSL
SLSLGGGGGGSGGGGSGGGGSHPIPDSSPLLQFGGQVRQRYLYTDDAQQTEAHLEIREDDGTGGAADQS
PESLLQLKALKPGVIQILGVKTSRFLCQRPDGALYGLHFDPEACSFRRERLLEDGYNVYQSEAHGLPLH
LPGNKSPHRDPAPRGPARFLPLPGLPPALPEPPGILAPQPPDVGSSDPLHMGASQGLSPSYAS (SEQ ID NO:8);

HGEGTFTSDVSSYLEEQAAKEFIAWLKGGGGGGGSGGGGSGGGGSESKYGPPCPPCAPEAAGG
PSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSV
LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFY
PSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSL
SLSLGGGGGGSGGGGSGGGGSHPIPDSSPLLQFGGQVRQRYLYTDDAQQTEAHLEIREDDGTGGAADQS
PESLLQLKALKPGVIQILGVKTSRFLCQRPDGALYGLHFDPEACSFRRERLLEDGYNVYQSEAHGLPLH
LPGNKSPHRDPAPRGPARFLPLPGLPPALPEPPGILAPQPPDVGSSDPLHMGGSQGLSPSYAS (SEQ ID NO:9);

HGEGTFTSDVSSYLEEQAAKEFIAWLKGGGGGGGSGGGGSGGGGSESKYGPPCPPCAPEAAGG
PSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSV
LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFY
PSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSL
SLSLGGGGGGSGGGGSGGGGSHPIPDSSPLLQFGGQVRQYLYTDDAQQTEAHLEIREDDGTGGAADQS
PESLLQLKALKPGVIQILGVKTSRFLCQRPDGALYGLHFDPEACSFRRERLLEDGYNVYQSEAHGLPLH
LPGNKSPHRDPAPRGPAQFLPLPGLPPALPEPPGILAPQPPDVGSSDPLHMGGSQGLSPSYAS (SEQ ID NO:10);

HGEGTFTSDVSSYLEEQAAKEFIAWLKGGGGGGGSGGGGSGGGGSESKYGPPCPPCAPEAAGG
PSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSV
LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFY
PSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSL
SLSLGGGGGGSGGGGSGGGGSHPIPDSSPLLQFGGQVRQYLYTDDAQQTEAHLEIREDDGTGGAADQS
PESLLQLKALKPGVIQILGVKTSRFLCQRPDGALYGLHFDPEACSFRRERLLEDGYNVYQSEAHGLPLH

LPGNKSPHRDPAPRGPAQFLPLPGLPPALPEPPGILAPQPPDVGSSDPLHMGASQGLSPSYAS (SEQ ID NO:11);

HGEGTFTSDVSSYLEEQAAKEFIWLKGGGGGGSGGGGSGGGGSESKYGPPCPPCAPEAAGG
PSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSV
LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFY
PSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSGSSFFLYSKLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSL
SLSLGGGGGGSGGGGSGGGGSHPIPDSSPLLQFGGQVRQVYLYTDDAQQTEAHLEIREDDGTVGGAADQS
PESLLQLKALKPGVIQILGVKTSRFLCQRPDGLYGLSLHFDPEACSFRRERLLEDGYNVYQSEAHGLPLH
LPGNKSPHRDPAPRGPARFLPLPGLPPALPEPPGILAPQPPDVGSSDPLHMGASQGLSPSYES (SEQ ID NO:12)。

在本发明的一些可选实施例中，所述 GLP-1-Fc-FGF21 融合蛋白具有如 SEQ ID NO:1~12 任一项所示的氨基酸序列。

在本发明的一些可选实施例中，所述 GLP-1-Fc-FGF21 融合蛋白具有如 SEQ ID NO:1 所示的氨基酸序列。

在本发明的一些可选实施例中，所述 GLP-1-Fc-FGF21 融合蛋白具有如 SEQ ID NO:2 所示的氨基酸序列。

在本发明的一些可选实施例中，所述 GLP-1-Fc-FGF21 融合蛋白具有如 SEQ ID NO:3 所示的氨基酸序列。

在本发明的一些可选实施例中，所述 GLP-1-Fc-FGF21 融合蛋白具有如 SEQ ID NO:4 所示的氨基酸序列。

在本发明的一些可选实施例中，所述 GLP-1-Fc-FGF21 融合蛋白具有如 SEQ ID NO:5 所示的氨基酸序列。

在本发明的一些可选实施例中，所述 GLP-1-Fc-FGF21 融合蛋白具有如 SEQ ID NO:6 所示的氨基酸序列。

在本发明的一些可选实施例中，所述 GLP-1-Fc-FGF21 融合蛋白具有如 SEQ ID NO:7 所示的氨基酸序列。

在本发明的一些可选实施例中，所述 GLP-1-Fc-FGF21 融合蛋白具有如 SEQ ID NO:8 所示的氨基酸序列。

在本发明的一些可选实施例中，所述 GLP-1-Fc-FGF21 融合蛋白具有如 SEQ ID NO:9 所示的氨基酸序列。

在本发明的一些可选实施例中，所述 GLP-1-Fc-FGF21 融合蛋白具有如 SEQ ID NO:10 所示的氨基酸序列。

在本发明的一些可选实施例中，所述 GLP-1-Fc-FGF21 融合蛋白具有如 SEQ ID NO:11 所示的氨基酸序列。

在本发明的一些可选实施例中，所述 GLP-1-Fc-FGF21 融合蛋白具有如 SEQ ID NO:12 所示的氨基酸序列。

在本发明的一些可选实施例中，所述 GLP-1-Fc-FGF21 融合蛋白在所述组合物中的浓度为 1~100mg/mL，例如 1mg/mL、2 mg/mL、3 mg/mL、4 mg/mL、5 mg/mL、6 mg/mL、7 mg/mL、8 mg/mL、9 mg/mL、10 mg/mL、15 mg/mL、20 mg/mL、25 mg/mL、30 mg/mL、35 mg/mL、40 mg/mL、45 mg/mL、50 mg/mL、55 mg/mL、60 mg/mL、65 mg/mL、70 mg/mL、75 mg/mL、80 mg/mL、85 mg/mL、90 mg/mL、

100 mg/mL 或它们之间任意两个数值作为端点值之间的范围值, 如 2~99 mg/mL、2~95 mg/mL、2~90 mg/mL、2~85 mg/mL、2~80 mg/mL、2~75 mg/mL、2~70 mg/mL、2~65 mg/mL、2~60 mg/mL、2~55 mg/mL、5~99 mg/mL、5~95 mg/mL、5~90 mg/mL、5~85 mg/mL、5~80 mg/mL、5~75 mg/mL、5~70 mg/mL、5~65 mg/mL、5~60 mg/mL、5~55 mg/mL、10~99 mg/mL、10~95 mg/mL、10~90 mg/mL、10~85 mg/mL、10~80 mg/mL、10~75 mg/mL、10~70 mg/mL、10~65 mg/mL、10~60 mg/mL、10~55 mg/mL、25~99 mg/mL、25~95 mg/mL、25~90 mg/mL、25~85 mg/mL、25~80 mg/mL、25~75 mg/mL、25~70 mg/mL、25~65 mg/mL、25~60 mg/mL、25~55 mg/mL、30~99 mg/mL、30~95 mg/mL、30~90 mg/mL、30~85 mg/mL、30~80 mg/mL、30~75 mg/mL、30~70 mg/mL、30~65 mg/mL、30~60 mg/mL、30~55 mg/mL、35~99 mg/mL、35~95 mg/mL、35~90 mg/mL、35~85 mg/mL、35~80 mg/mL、35~75 mg/mL、35~70 mg/mL、35~65 mg/mL、35~60 mg/mL、35~55 mg/mL、40~99 mg/mL、40~95 mg/mL、40~90 mg/mL、40~85 mg/mL、40~80 mg/mL、40~75 mg/mL、40~70 mg/mL、40~65 mg/mL、40~60 mg/mL、40~55 mg/mL。

在本发明的一些可选实施例中, 所述 GLP-1-Fc-FGF21 融合蛋白在所述组合物中的浓度为 2~55mg/mL, 例如 2~25 mg/mL、3~25 mg/mL、10~25 mg/mL、10~20 mg/mL、15~25 mg/mL、15~20 mg/mL、25~100 mg/mL、25~95 mg/mL、25~90 mg/mL、25~85 mg/mL、25~80 mg/mL、25~75 mg/mL、25~70 mg/mL、25~65 mg/mL、25~60 mg/mL、25~55 mg/mL、25~50 mg/mL、25~40 mg/mL、40~55 mg/mL、40~50 mg/mL、45~55 mg/mL、45~50 mg/mL。

在本发明的一些可选实施例中, 所述组合物的 pH 值为 6.4~8.0, 例如 6.4、6.5、6.6、6.7、6.8、6.9、7.0、7.1、7.2、7.3、7.4、7.5、7.6、7.7、7.8、7.9 或 8.0, 或者为任意两个值作为端点值之间的范围值。由此, 可进一步提高融合蛋白的稳定性, 例如 6.2~8.0、6.9~7.5。

在本发明的一些可选实施例中, 所述缓冲液包括组氨酸缓冲液、柠檬酸盐缓冲液、磷酸盐缓冲液和 Tris 缓冲液中的至少之一。

在本文中, 无需特殊说明, “柠檬酸盐缓冲液”或“柠檬酸盐缓冲液”可选自柠檬酸, 也可选自柠檬酸钠, 还可选自柠檬酸和柠檬酸钠的混合物, 其均在本申请的保护范围内。

在本发明的一些可选实施例中, 所述磷酸盐缓冲液选自磷酸氢二钠和磷酸二氢钠的组合或者磷酸氢二钾和磷酸二氢钾的组合。

在本发明的一些可选实施例中, 所述组氨酸缓冲液包括组氨酸和/或盐酸组氨酸。

在本发明的一些可选实施例中, 所述组氨酸缓冲液包括组氨酸和盐酸组氨酸。

在本发明的一些可选实施例中, 所述组氨酸缓冲液包括组氨酸或盐酸组氨酸。

在本发明的一些可选实施例中, 所述柠檬酸盐缓冲液包括柠檬酸和/或柠檬酸钠。

在本发明的一些可选实施例中, 所述柠檬酸盐缓冲液包括柠檬酸和柠檬酸钠。

在本发明的一些可选实施例中, 所述柠檬酸盐缓冲液包括柠檬酸或柠檬酸钠。

在本发明的一些可选实施例中, 所述 Tris 缓冲液包括 Tris 和/或 Tris-HCl。

在本发明的一些可选实施例中, 所述 Tris 缓冲液包括 Tris 和 Tris-HCl。

在本发明的一些可选实施例中, 所述 Tris 缓冲液包括 Tris 或 Tris-HCl。

在本发明的一些可选实施例中, 所述缓冲液包括组氨酸缓冲液或柠檬酸盐缓冲液。

在本发明的一些可选实施例中, 所述缓冲液在所述组合物中的浓度为 5~30mM, 例如 5 mM、6 mM、7 mM、8 mM、9 mM、10 mM、11 mM、11.29 mM、12 mM、13 mM、14 mM、15 mM、16 mM、17 mM、18 mM、19 mM、20 mM、21 mM、22 mM、23 mM、24 mM、25 mM、26 mM、27 mM、28 mM、29 mM 或 30 mM, 或者为任意两个值作为端点值之间的范围值(例如 5~25mM、8~25mM、8~12mM、10~20mM)。

在本发明的一些可选实施例中, 所述组合物进一步包括渗透压调节剂、表面活性剂、防腐剂和金属

螯合剂的至少之一。由此，可进一步提高融合蛋白的稳定性。

在本发明的一些可选实施例中，所述渗透压调节剂包括甘露醇、蔗糖、氯化钠和海藻糖中的至少之一。

在本发明的一些可选实施例中，所述渗透压调节剂在所述组合物中的浓度为 30~100 mg/mL，例如 30 mg/mL、35 mg/mL、40 mg/mL、41 mg/mL、41.4 mg/mL、41.5 mg/mL、42 mg/mL、42.4 mg/mL、42.5 mg/mL、43 mg/mL、43.4 mg/mL、43.5 mg/mL、44 mg/mL、44.4 mg/mL、44.5 mg/mL、45 mg/mL、45.4 mg/mL、45.5 mg/mL、46 mg/mL、46.4 mg/mL、46.5 mg/mL、47 mg/mL、47.4 mg/mL、47.5 mg/mL、48 mg/mL、48.4 mg/mL、48.5 mg/mL、49 mg/mL、49.4 mg/mL、49.5 mg/mL、50 mg/mL、55 mg/mL、60 mg/mL、65 mg/mL、70 mg/mL、75 mg/mL、80 mg/mL、85 mg/mL、90 mg/mL、95 mg/mL 或 100 mg/mL，或者为任意两个值作为端点值之间的范围值。

在本发明的一些可选实施例中，所述渗透压调节剂在所述组合物中的浓度为 1~10 mg/mL，例如 1mg/mL、2 mg/mL、3 mg/mL、4mg/mL、5 mg/mL、6 mg/mL、7mg/mL、8 mg/mL、9 mg/mL 或 10 mg/mL，或者为任意两个值作为端点值之间的范围值。

在本发明的一些可选实施例中，所述表面活性剂包括聚山梨酯 80、聚山梨酯 20 和泊洛沙姆 188 中的至少之一。

在本发明的一些可选实施例中，所述表面活性剂在所述组合物中的浓度为 0.1~10 mg/mL，例如为 0.1 mg/mL、0.2 mg/mL、0.3 mg/mL、0.4 mg/mL、0.5 mg/mL、0.6 mg/mL、0.7 mg/mL、0.8 mg/mL、0.9 mg/mL、1.0 mg/mL、1.1 mg/mL、1.2 mg/mL、1.3 mg/mL、1.4 mg/mL、1.5 mg/mL、1.6 mg/mL、1.7 mg/mL、1.8 mg/mL、1.9 mg/mL、2.0 mg/mL、2.5 mg/mL、3 mg/mL、3.5 mg/mL、4 mg/mL、4.5 mg/mL、5 mg/mL、5.5 mg/mL、6 mg/mL、6.5 mg/mL、7 mg/mL、7.5 mg/mL、8 mg/mL、8.5 mg/mL、9 mg/mL、9.5 mg/mL 或 10 mg/mL，或者为任意两个值作为端点值之间的范围值（例如 1~1.5 mg/mL、6~10 mg/mL、0.1~0.7 mg/mL）。

示例性地，所述表面活性剂在所述组合物中的浓度为 0.1~1.5 mg/mL 或 0.1~1 mg/mL。

在本发明的一些可选实施例中，所述防腐剂为苯酚、间甲酚中的至少之一。

根据本发明的实施例，所述防腐剂在所述组合物中的浓度为 0.1~10 mg/mL，例如 0.1 mg/mL、0.2 mg/mL、0.3 mg/mL、0.4 mg/mL、0.5 mg/mL、0.6 mg/mL、0.7 mg/mL、0.8 mg/mL、0.9 mg/mL、1.0 mg/mL、1.5 mg/mL、2.0 mg/mL、2.5 mg/mL、3.0 mg/mL、3.5 mg/mL、4.0 mg/mL、4.5 mg/mL、5.0 mg/mL、5.5 mg/mL、6.0 mg/mL、6.5 mg/mL、7.0 mg/mL、7.5 mg/mL、8.0 mg/mL、8.5 mg/mL、9.0 mg/mL、9.5 mg/mL、10.0 mg/mL，如 1.0~5.0 mg/mL。

在本发明的一些可选实施例中，所述防腐剂为苯酚。

根据本发明的实施例，所述苯酚在所述组合物中的浓度为 1.0~5.0 mg/mL，例如 1.0 mg/mL、1.5 mg/mL、2.0 mg/mL、2.5 mg/mL、3.0 mg/mL、3.5 mg/mL、4.0 mg/mL、4.5 mg/mL、5.0 mg/mL、5.5 mg/mL、6.0 mg/mL、6.5 mg/mL、7.0 mg/mL、7.5 mg/mL、8.0 mg/mL、8.5 mg/mL、9.0 mg/mL、9.5 mg/mL、10.0 mg/mL，如 2~7 mg/mL、3.0~4.0 mg/mL。

在本发明的一些可选实施例中，所述防腐剂为间甲酚。

根据本发明的实施例，所述间甲酚在所述组合物中的浓度为 1.0~5.0 mg/mL，例如 1.0 mg/mL、1.5 mg/mL、2.0 mg/mL、2.5 mg/mL、3.0 mg/mL、3.5 mg/mL、4.0 mg/mL、4.5 mg/mL、5.0 mg/mL、5.5 mg/mL、6.0 mg/mL、6.5 mg/mL、7.0 mg/mL、7.5 mg/mL、8.0 mg/mL、8.5 mg/mL、9.0 mg/mL、9.5 mg/mL、10.0 mg/mL，如 3.0~4.0 mg/mL。

在本发明的一些可选实施例中，所述防腐剂为苯酚和间甲酚。

根据本发明的实施例，所述苯酚在所述组合物中的浓度为 1.0~5.0 mg/mL（如 1.0 mg/mL、1.5 mg/mL、

2.0 mg/mL、2.5 mg/mL、3.0 mg/mL、3.5 mg/mL、4.0 mg/mL、4.5 mg/mL、5.0 mg/mL、5.5 mg/mL、6.0 mg/mL、6.5 mg/mL、7.0 mg/mL、7.5 mg/mL、8.0 mg/mL、8.5 mg/mL、9.0 mg/mL、9.5 mg/mL、10.0 mg/mL），所述间甲酚在所述组合物中的浓度为0.1~1.0 mg/mL（例如0.1 mg/mL、0.2 mg/mL、0.3 mg/mL、0.4 mg/mL、0.5 mg/mL、0.6 mg/mL、0.7 mg/mL、0.8 mg/mL、0.9 mg/mL、1.0 mg/mL）。

在本发明的一些可选实施例中，所述金属螯合剂为依地酸二钠（EDTA-2Na）和依地酸钙钠（EDTA-CaNa₂）中的至少之一。

在本发明的一些可选实施例中，所述金属螯合剂为依地酸二钠（EDTA-2Na）。

在本发明的一些可选实施例中，所述金属螯合剂为依地酸钙钠（EDTA-CaNa₂）。

在本发明的一些可选实施例中，所述金属螯合剂在所述组合物中的浓度为0.01~1 mg/mL，例如为0.01 mg/mL、0.02 mg/mL、0.03 mg/mL、0.04 mg/mL、0.05 mg/mL、0.06 mg/mL、0.07 mg/mL、0.08 mg/mL、0.09 mg/mL、0.1 mg/mL、0.11 mg/mL、0.115 mg/mL、0.12 mg/mL、0.13 mg/mL、0.14 mg/mL、0.15 mg/mL、0.16 mg/mL、0.17 mg/mL、0.18 mg/mL、0.19 mg/mL、0.2 mg/mL、0.25 mg/mL、0.3 mg/mL、0.35 mg/mL、0.4 mg/mL、0.45 mg/mL、0.5 mg/mL、0.55 mg/mL、0.6 mg/mL、0.65 mg/mL、0.7 mg/mL、0.75 mg/mL、0.8 mg/mL、0.85 mg/mL、0.9 mg/mL、0.95 mg/mL或1.0 mg/mL，或者为任意两个值作为端点值之间的范围值（0.05~0.5 mg/mL、0.08~0.12 mg/mL、0.1~0.12 mg/mL）。

示例性地，所述金属螯合剂在所述组合物中的浓度为0.08~0.12 mg/mL。在本发明的实施例中，无论是柠檬酸体系，还是组氨酸的缓冲体系，在融合蛋白的制剂中是否加入EDTA钠盐，该制剂的稳定性均较好。即是否加入EDTA钠盐均在本发明的保护范围之内。

在本发明的一些可选实施例中，所述缓冲液为组氨酸缓冲液，所述GLP-1-Fc-FGF21融合蛋白在所述组合物中的浓度为25~100 mg/mL，例如25 mg/mL、30 mg/mL、35 mg/mL、40 mg/mL、45 mg/mL、50 mg/mL、55 mg/mL、60 mg/mL、65 mg/mL、70 mg/mL、75 mg/mL、80 mg/mL、85 mg/mL、90 mg/mL、95 mg/mL、100 mg/mL，或者为任意两个值作为端点值之间的范围值（如25~75 mg/mL、25~70 mg/mL、25~65 mg/mL、25~60 mg/mL、25~55 mg/mL、25~50 mg/mL、25~40 mg/mL、40~80 mg/mL、40~75 mg/mL、40~70 mg/mL、40~65 mg/mL、40~60 mg/mL、40~55 mg/mL、40~50 mg/mL、45~80 mg/mL、45~75 mg/mL、45~70 mg/mL、45~65 mg/mL、45~60 mg/mL、45~55 mg/mL、45~50 mg/mL）。

在本发明的一些可选实施例中，所述GLP-1-Fc-FGF21融合蛋白在所述组合物中的浓度为25~55 mg/mL，所述缓冲液为组氨酸缓冲液。发明人意外发现，融合蛋白的终浓度为25~55 mg/mL，通过组氨酸缓冲液的加入，可有效控制组合物中可见异物的产生，不仅可提高融合蛋白的物理稳定性，降低潜在的安全性风险，还可有效的控制化学变化速率，保持在高温、加速、长期、反复冻融、震荡以及模拟运输条件下的稳定性，制得的组合物具有较长的货架期。

在本发明的一些可选实施例中，所述组氨酸缓冲液在所述组合物中的浓度为5~30 mM，例如5 mM、6 mM、7 mM、8 mM、9 mM、10 mM、11 mM、12 mM、13 mM、14 mM、15 mM、16 mM、17 mM、18 mM、19 mM、20 mM、21 mM、22 mM、23 mM、24 mM、25 mM、26 mM、27 mM、28 mM、29 mM、30 mM，或者为任意两个值作为端点值之间的范围值（如5~25 mg/mL、8~25 mg/mL、8~20 mg/mL、10~20 mg/mL、8~12 mg/mL）。

在本发明的一些可选实施例中，所述组氨酸缓冲液在所述组合物中的浓度为10~20 mM。

在本发明的一些可选实施例中，所述组合物的pH值为6.7~7.5，优选为6.9~7.5。

在本发明的一些可选实施例中，所述渗透压调节剂为甘露醇，所述渗透压调节剂在所述组合物中的浓度为30~50 mg/mL；或者所述渗透压调节剂为蔗糖，所述渗透压调节剂在所述组合物中的浓度为60~100 mg/mL，优选80~100 mg/mL；或所述渗透压调节剂为海藻糖，所述渗透压调节剂在所述组合物

中的浓度为 40~100 mg/mL, 优选 40~70 mg/mL、50~70 mg/mL、55~65 mg/mL; 或所述渗透压调节剂为氯化钠, 所述渗透压调节剂在所述组合物中的浓度为 1~10 mg/mL, 优选 3~9mg/mL。

在本发明的一些可选实施例中, 所述表面活性剂为聚山梨酯 80, 所述表面活性剂在所述组合物中的浓度为 0.1~2 mg/mL, 例如 0.1 mg/mL、0.2 mg/mL、0.3 mg/mL、0.4 mg/mL、0.5 mg/mL、0.6 mg/mL、0.7 mg/mL、0.8 mg/mL、0.9 mg/mL、1.0 mg/mL、1.1 mg/mL、1.2 mg/mL、1.3 mg/mL、1.4 mg/mL、1.5 mg/mL、1.6 mg/mL、1.7 mg/mL、1.8 mg/mL、1.9 mg/mL 或 2.0 mg/mL, 或者为任意两个值作为端点值之间的范围值 (例如 0.1~1.5 mg/mL、0.2~2 mg/mL、0.4~1.3 mg/mL); 或者

在本发明的一些可选实施例中, 所述表面活性剂为聚山梨酯 20, 所述表面活性剂在所述组合物中的浓度为 0.1~1.5 mg/mL, 例如 0.1 mg/mL、0.2 mg/mL、0.3 mg/mL、0.4 mg/mL、0.5 mg/mL、0.6 mg/mL、0.7 mg/mL、0.8 mg/mL、0.9 mg/mL、1.0 mg/mL、1.1 mg/mL、1.2 mg/mL、1.3 mg/mL、1.4 mg/mL 或 1.5 mg/mL, 或者为任意两个值作为端点值之间的范围值 (例如 0.1~0.5 mg/mL)。

在本发明的一些可选实施例中, 所述 GLP-1-Fc-FGF21 融合蛋白在所述组合物中的浓度为 2~25mg/mL, 所述缓冲液为柠檬酸盐缓冲液。发明人意外发现, 融合蛋白的终浓度为 2~25 mg/mL, 通过柠檬酸盐缓冲液的加入, 可有效控制组合物中可见异物的产生, 可提高融合蛋白的物理稳定性和化学稳定性, 可降低潜在的安全性风险, 延长组合物的货架期。

在本发明的一些可选实施例中, 所述柠檬酸盐缓冲液在所述组合物中的浓度为 5~30mM, 例如 5 mM、6 mM、7 mM、8 mM、9 mM、10 mM、11 mM、12 mM、13 mM、14 mM、15 mM、16 mM、17 mM、18 mM、19 mM、20 mM、21 mM、22 mM、23 mM、24 mM、25 mM、26 mM、27 mM、28 mM、29 mM 或 30 mM, 或者为任意两个值作为端点值之间的范围值 (例如 5~25 mM、8~25 mM、8~20 mM、10~20 mM、8~12 mM、5~15mM、10~15 mM)。

在本发明的一些可选实施例中, 所述组合物的 pH 值为 6.4~8.0。

在本发明的一些可选实施例中, 所述渗透压调节剂为甘露醇, 所述渗透压调节剂在所述组合物中的浓度为 30~50 mg/mL; 或者所述渗透压调节剂为蔗糖, 所述渗透压调节剂在所述组合物中的浓度为 60~100 mg/mL, 优选 80~100 mg/mL; 或者所述渗透压调节剂为海藻糖, 所述渗透压调节剂在所述组合物中的浓度为 40~100 mg/mL, 优选 40~70 mg/mL, 更优选 50~70 mg/mL。

根据本发明的实施例, 所述渗透压调节剂为氯化钠, 所述渗透压调节剂在所述组合物中的浓度为 1~10 mg/mL, 优选 3~9mg/mL。

在本发明的一些可选实施例中, 所述表面活性剂包括聚山梨酯 80、聚山梨酯 20 和泊洛沙姆 188 中的至少之一, 优选为聚山梨酯 80。

在本发明的一些可选实施例中, 所述表面活性剂在所述组合物中的浓度为 0.1~10.0 mg/mL, 例如 0.1 mg/mL、0.2 mg/mL、0.3 mg/mL、0.4 mg/mL、0.5 mg/mL、0.6 mg/mL、0.7 mg/mL、0.8 mg/mL、0.9 mg/mL、1.0 mg/mL、2.0 mg/mL、3.0 mg/mL、4.0 mg/mL、5.0 mg/mL、6.0 mg/mL、7.0 mg/mL、8.0 mg/mL、9.0 mg/mL 或 10.0 mg/mL, 或者为任意两个值作为端点值之间的范围值 (例如 0.1~1.5 mg/mL、0.1~1.0 mg/mL、6.0~10.0 mg/mL、0.1~0.5 mg/mL、0.1~0.3 mg/mL)。

在本发明的一些可选实施例中, 所述表面活性剂为泊洛沙姆 188, 所述表面活性剂在所述组合物中的浓度为 6~10 mg/mL; 或者所述表面活性剂为聚山梨酯 80 或聚山梨酯 20, 所述表面活性剂在所述组合物中的浓度为 0.1~1.5 mg/mL, 优选为 0.1~1 mg/mL 或 0.1~0.5 mg/mL。

在本发明的一些可选实施例中, 所述组合物的剂型为注射剂。

注射液

在本发明的另一方面，本发明提出了一种注射液。根据本发明的实施例，所述注射液包括：GLP-1-Fc-FGF21 融合蛋白、组氨酸缓冲液、甘露醇和任选地依地酸二钠或依地酸钙钠，以及聚山梨酯 80 或聚山梨酯 20；所述 GLP-1-Fc-FGF21 融合蛋白具有如 SEQ ID NO:1~12 任一项所示的氨基酸序列，所述 GLP-1-Fc-FGF21 融合蛋白在所述注射液中的浓度为 25~100 mg/mL；所述组氨酸缓冲液在所述组合物中的浓度为 8~25mM；所述甘露醇在所述组合物中的浓度为 35~45 mg/mL；所述聚山梨酯 80 在所述组合物中的浓度为 0.4~1.3 mg/mL，或者所述聚山梨酯 20 在所述组合物中的浓度为 0.1~0.5 mg/mL；所述金属螯合剂在所述组合物中的浓度为 0.05~0.5 mg/mL；所述注射液的 pH 值为 6.9~7.5。本发明的注射液可有效控制可见异物以及聚集体的产生，可提高融合蛋白的物理稳定性和化学稳定性，从而可降低潜在的安全性风险以及延长的货架期。

根据本发明的实施例，所述 GLP-1-Fc-FGF21 融合蛋白在所述注射液中的浓度为 25~95 mg/mL。

根据本发明的实施例，所述 GLP-1-Fc-FGF21 融合蛋白在所述注射液中的浓度为 25~90 mg/mL。

根据本发明的实施例，所述 GLP-1-Fc-FGF21 融合蛋白在所述注射液中的浓度为 25~85 mg/mL。

根据本发明的实施例，所述 GLP-1-Fc-FGF21 融合蛋白在所述注射液中的浓度为 25~80 mg/mL。

根据本发明的实施例，所述 GLP-1-Fc-FGF21 融合蛋白在所述注射液中的浓度为 25~75 mg/mL。

根据本发明的实施例，所述 GLP-1-Fc-FGF21 融合蛋白在所述注射液中的浓度 25~70 mg/mL。

根据本发明的实施例，所述 GLP-1-Fc-FGF21 融合蛋白在所述注射液中的浓度 25~65 mg/mL。

根据本发明的实施例，所述 GLP-1-Fc-FGF21 融合蛋白在所述注射液中的浓度 25~60 mg/mL。

根据本发明的实施例，所述 GLP-1-Fc-FGF21 融合蛋白在所述注射液中的浓度 25~55 mg/mL。

根据本发明的实施例，所述 GLP-1-Fc-FGF21 融合蛋白在所述注射液中的浓度 25~50 mg/mL。

在本发明的一些可选实施例中，所述 GLP-1-Fc-FGF21 融合蛋白具有如 SEQ ID NO:1 所示的氨基酸序列。在本发明的一些可选实施例中，所述 GLP-1-Fc-FGF21 融合蛋白具有如 SEQ ID NO:2 所示的氨基酸序列。在本发明的一些可选实施例中，所述 GLP-1-Fc-FGF21 融合蛋白具有如 SEQ ID NO:3 所示的氨基酸序列。在本发明的一些可选实施例中，所述 GLP-1-Fc-FGF21 融合蛋白具有如 SEQ ID NO:4 所示的氨基酸序列。在本发明的一些可选实施例中，所述 GLP-1-Fc-FGF21 融合蛋白具有如 SEQ ID NO:5 所示的氨基酸序列。在本发明的一些可选实施例中，所述 GLP-1-Fc-FGF21 融合蛋白具有如 SEQ ID NO:6 所示的氨基酸序列。在本发明的一些可选实施例中，所述 GLP-1-Fc-FGF21 融合蛋白具有如 SEQ ID NO:7 所示的氨基酸序列。在本发明的一些可选实施例中，所述 GLP-1-Fc-FGF21 融合蛋白具有如 SEQ ID NO:8 所示的氨基酸序列。在本发明的一些可选实施例中，所述 GLP-1-Fc-FGF21 融合蛋白具有如 SEQ ID NO:9 所示的氨基酸序列。在本发明的一些可选实施例中，所述 GLP-1-Fc-FGF21 融合蛋白具有如 SEQ ID NO:10 所示的氨基酸序列。在本发明的一些可选实施例中，所述 GLP-1-Fc-FGF21 融合蛋白具有如 SEQ ID NO:11 所示的氨基酸序列。在本发明的一些可选实施例中，所述 GLP-1-Fc-FGF21 融合蛋白具有如 SEQ ID NO:12 所示的氨基酸序列。

根据本发明的实施例，所述注射液包括：GLP-1-Fc-FGF21 融合蛋白、组氨酸缓冲液、甘露醇和任选地依地酸二钠或依地酸钙钠，以及聚山梨酯 80 或聚山梨酯 20；所述 GLP-1-Fc-FGF21 融合蛋白具有如 SEQ ID NO:1 所示的氨基酸序列，所述 GLP-1-Fc-FGF21 融合蛋白在所述注射液中的浓度为 25~50 mg/mL；所述组氨酸缓冲液在所述组合物中的浓度为 10~20 mM；所述甘露醇在所述组合物中的浓度为 35~45 mg/mL；所述聚山梨酯 80 在所述组合物中的浓度为 0.4~1.3 mg/mL，或者所述聚山梨酯 20 在所述组合物中的浓度为 0.1~0.5 mg/mL；所述金属螯合剂在所述组合物中的浓度为 0.05~0.5 mg/mL；所述注射液的 pH 值为 6.9~7.5。

根据本发明的实施例，所述的注射液不包含依地酸二钠或依地酸钙钠。

在本申请的一个可选实施例中，上述多个方面的注射液还可以进一步包括防腐剂。

在本申请的一个可选实施例中，所述防腐剂至少选自苯酚、间甲酚、苯甲醇、苯氧基乙醇之一。

在本申请的一个可选实施例中，所述苯酚在组合物或注射液中的浓度为 0~7 mg/mL，例如 0.1 mg/mL、0.5 mg/mL、1.0 mg/mL、1.5 mg/mL、2.0 mg/mL、2.5 mg/mL、3.0 mg/mL、3.5 mg/mL、4.0 mg/mL、4.5 mg/mL、5.0 mg/mL、5.5 mg/mL、6.0 mg/mL、6.5 mg/mL、7.0 mg/mL，或者为任意两个值作为端点值之间的范围值（例如 3~7mg/mL、2~4 mg/mL）。

在本申请的一个可选实施例中，所述间甲酚在组合物或注射液中的浓度为 0~4 mg/mL，例如 0.1 mg/mL、0.5 mg/mL、1.0 mg/mL、1.5 mg/mL、2.0 mg/mL、2.5 mg/mL、3.0 mg/mL、3.5 mg/mL、4.0 mg/mL，或者为任意两个值作为端点值之间的范围值（例如 2~4mg/mL）。

在本发明的另一方面，本发明提出了一种注射液。根据本发明的实施例，所述注射液包括：GLP-1-Fc-FGF21 融合蛋白、组氨酸缓冲液、蔗糖或海藻糖，和任选地依地酸二钠或依地酸钙钠，以及聚山梨酯 80 或聚山梨酯 20；所述 GLP-1-Fc-FGF21 融合蛋白具有如 SEQ ID NO:1~12 任一项所示的氨基酸序列，所述 GLP-1-Fc-FGF21 融合蛋白在所述注射液中的浓度为 25~100 mg/mL；所述组氨酸缓冲液在所述组合物中的浓度为 8~20 mM；所述蔗糖在所述组合物中的浓度为 85~95 mg/mL；所述海藻糖在所述注射液中的浓度为 55~65 mg/mL；所述聚山梨酯 80 在所述组合物中的浓度为 0.4~1.3 mg/mL，或者所述聚山梨酯 20 在所述组合物中的浓度为 0.1~0.5 mg/mL；所述注射液的 pH 值为 6.9~7.5。本发明的注射液可有效控制可见异物以及聚集体的产生，可提高融合蛋白的物理稳定性和化学稳定性，从而可降低潜在的安全性风险以及延长的货架期。

根据本发明的实施例，所述 GLP-1-Fc-FGF21 融合蛋白在所述注射液中的浓度为 25~95 mg/mL。

根据本发明的实施例，所述 GLP-1-Fc-FGF21 融合蛋白在所述注射液中的浓度为 25~90 mg/mL。

根据本发明的实施例，所述 GLP-1-Fc-FGF21 融合蛋白在所述注射液中的浓度为 25~85 mg/mL。

根据本发明的实施例，所述 GLP-1-Fc-FGF21 融合蛋白在所述注射液中的浓度为 25~80 mg/mL。

根据本发明的实施例，所述 GLP-1-Fc-FGF21 融合蛋白在所述注射液中的浓度为 25~75 mg/mL。

根据本发明的实施例，所述 GLP-1-Fc-FGF21 融合蛋白在所述注射液中的浓度 25~70 mg/mL。

根据本发明的实施例，所述 GLP-1-Fc-FGF21 融合蛋白在所述注射液中的浓度 25~65 mg/mL。

根据本发明的实施例，所述 GLP-1-Fc-FGF21 融合蛋白在所述注射液中的浓度 25~60 mg/mL。

根据本发明的实施例，所述 GLP-1-Fc-FGF21 融合蛋白在所述注射液中的浓度 25~55 mg/mL。

根据本发明的实施例，所述 GLP-1-Fc-FGF21 融合蛋白在所述注射液中的浓度 25~50 mg/mL。

在本发明的一些可选实施例中，所述 GLP-1-Fc-FGF21 融合蛋白具有如 SEQ ID NO:1 所示的氨基酸序列。在本发明的一些可选实施例中，所述 GLP-1-Fc-FGF21 融合蛋白具有如 SEQ ID NO:2 所示的氨基酸序列。在本发明的一些可选实施例中，所述 GLP-1-Fc-FGF21 融合蛋白具有如 SEQ ID NO:3 所示的氨基酸序列。在本发明的一些可选实施例中，所述 GLP-1-Fc-FGF21 融合蛋白具有如 SEQ ID NO:4 所示的氨基酸序列。在本发明的一些可选实施例中，所述 GLP-1-Fc-FGF21 融合蛋白具有如 SEQ ID NO:5 所示的氨基酸序列。在本发明的一些可选实施例中，所述 GLP-1-Fc-FGF21 融合蛋白具有如 SEQ ID NO:6 所示的氨基酸序列。在本发明的一些可选实施例中，所述 GLP-1-Fc-FGF21 融合蛋白具有如 SEQ ID NO:7 所示的氨基酸序列。在本发明的一些可选实施例中，所述 GLP-1-Fc-FGF21 融合蛋白具有如 SEQ ID NO:8 所示的氨基酸序列。在本发明的一些可选实施例中，所述 GLP-1-Fc-FGF21 融合蛋白具有如 SEQ ID NO:9 所示的氨基酸序列。在本发明的一些可选实施例中，所述 GLP-1-Fc-FGF21 融合蛋白具有如 SEQ ID NO:10 所示的氨基酸序列。在本发明的一些可选实施例中，所述 GLP-1-Fc-FGF21 融合蛋白具有如 SEQ ID NO:11 所示的氨基酸序列。在本发明的一些可选实施例中，所述 GLP-1-Fc-FGF21 融合蛋白具有如 SEQ ID NO:12 所示的氨基酸序列。

所示的氨基酸序列。

根据本发明的实施例，所述注射液包括：GLP-1-Fc-FGF21 融合蛋白、组氨酸缓冲液和蔗糖，以及聚山梨酯 80 或聚山梨酯 20；所述 GLP-1-Fc-FGF21 融合蛋白包含如 SEQ ID NO:1 所示的氨基酸序列，所述 GLP-1-Fc-FGF21 融合蛋白在所述注射液中的浓度为 25~50 mg/mL；所述组氨酸缓冲液在所述注射液中的浓度为 10~20 mM；所述蔗糖在所述注射液中的浓度为 85~95 mg/mL；所述聚山梨酯 80 在所述注射液中的浓度为 0.4~1.3 mg/mL，或者所述聚山梨酯 20 在所述注射液中的浓度为 0.1~0.5 mg/mL；所述注射液的 pH 值为 6.9~7.5。

根据本发明的实施例，所述的注射液不包含依地酸二钠或依地酸钙钠。

在本申请的一个可选实施例中，上述多个方面的注射液还可以进一步包括防腐剂。

在本申请的一个可选实施例中，所述防腐剂至少选自苯酚、间甲酚、苯甲醇、苯氧基乙醇之一。

在本申请的一个可选实施例中，所述苯酚在组合物或注射液中的浓度为 0~7 mg/mL，例如 0.1 mg/mL、0.5 mg/mL、1.0 mg/mL、1.5 mg/mL、2.0 mg/mL、2.5 mg/mL、3.0 mg/mL、3.5 mg/mL、4.0 mg/mL、4.5 mg/mL、5.0 mg/mL、5.5 mg/mL、6.0 mg/mL、6.5 mg/mL、7.0 mg/mL，或者为任意两个值作为端点值之间的范围值（例如 3~7mg/mL、2~4 mg/mL）。

在本申请的一个可选实施例中，所述间甲酚在组合物或注射液中的浓度为 0~4 mg/mL，例如 0.1 mg/mL、0.5 mg/mL、1.0 mg/mL、1.5 mg/mL、2.0 mg/mL、2.5 mg/mL、3.0 mg/mL、3.5 mg/mL、4.0 mg/mL，或者为任意两个值作为端点值之间的范围值（例如 2~4mg/mL）。

在本发明的另一方面，本发明提出了一种注射液。根据本发明的实施例，所述注射液包括：GLP-1-Fc-FGF21 融合蛋白、柠檬酸盐缓冲液、蔗糖或海藻糖，和任选地依地酸二钠或依地酸钙钠，以及聚山梨酯 80 或聚山梨酯 20；所述 GLP-1-Fc-FGF21 融合蛋白包含如 SEQ ID NO:1~12 任一项所示的氨基酸序列，所述 GLP-1-Fc-FGF21 融合蛋白在所述注射液中的浓度为 25~100 mg/mL，优选为 25~95 mg/mL、25~90 mg/mL、25~85 mg/mL、25~80 mg/mL、25~75 mg/mL、25~70 mg/mL、25~65 mg/mL、25~60 mg/mL、25~55 mg/mL、25~50 mg/mL；所述柠檬酸盐缓冲液在所述注射液中的浓度为 8~25mM，优选为 10~20 mM；所述蔗糖在所述注射液中的浓度为 85~95 mg/mL；所述海藻糖在所述注射液中的浓度为 55~65 mg/mL；所述聚山梨酯 80 在所述注射液中的浓度为 0.4~1.3 mg/mL，或者所述聚山梨酯 20 在所述注射液中的浓度为 0.1~0.5mg/mL；所述注射液的 pH 值为 6.9~7.5。本发明的注射液可有效控制可见异物的产生，可提高融合蛋白的物理稳定性和化学稳定性，从而可降低潜在的安全性风险以及延长的货架期。

根据本发明的实施例，所述的注射液不包含依地酸二钠或依地酸钙钠。

在本申请的一个可选实施例中，上述多个方面的注射液还可以进一步包括防腐剂。

在本申请的一个可选实施例中，所述防腐剂至少选自苯酚、间甲酚、苯甲醇、苯氧基乙醇之一。

在本申请的一个可选实施例中，所述苯酚在组合物或注射液中的浓度为 0~7 mg/mL，例如 0.1 mg/mL、0.5 mg/mL、1.0 mg/mL、1.5 mg/mL、2.0 mg/mL、2.5 mg/mL、3.0 mg/mL、3.5 mg/mL、4.0 mg/mL、4.5 mg/mL、5.0 mg/mL、5.5 mg/mL、6.0 mg/mL、6.5 mg/mL、7.0 mg/mL，或者为任意两个值作为端点值之间的范围值（例如 3~7mg/mL、2~4 mg/mL）。

在本申请的一个可选实施例中，所述间甲酚在组合物或注射液中的浓度为 0~4 mg/mL，例如 0.1 mg/mL、0.5 mg/mL、1.0 mg/mL、1.5 mg/mL、2.0 mg/mL、2.5 mg/mL、3.0 mg/mL、3.5 mg/mL、4.0 mg/mL，或者为任意两个值作为端点值之间的范围值（例如 2~4mg/mL）。

在本发明的另一方面，本发明提出了一种注射液。根据本发明的实施例，所述注射液包括：GLP-1-Fc-FGF21 融合蛋白、柠檬酸盐缓冲液、甘露醇和任选地依地酸二钠或依地酸钙钠，以及聚山梨

酯 80 或聚山梨酯 20; 所述 GLP-1-Fc-FGF21 融合蛋白包含如 SEQ ID NO:1~12 任一项所示的氨基酸序列, 所述 GLP-1-Fc-FGF21 融合蛋白在所述注射液中的浓度为 25~100 mg/mL, 优选为 25~95 mg/mL、25~90 mg/mL、25~85 mg/mL、25~80 mg/mL、25~75 mg/mL、25~70 mg/mL、25~65 mg/mL、25~60 mg/mL、25~55 mg/mL、25~50 mg/mL; 所述柠檬酸盐缓冲液在所述注射液中的浓度为 8~25mM, 优选为 10~20 mM; 所述甘露醇在所述注射液中的浓度为 35~45 mg/mL; 所述聚山梨酯 80 在所述注射液中的浓度为 0.4~1.5 mg/mL、或 0.4~1.3 mg/mL, 或者所述聚山梨酯 20 在所述注射液中的浓度为 0.1~0.5 mg/mL; 所述金属螯合剂在所述注射液中的浓度为 0.05~0.5 mg/mL; 所述注射液的 pH 值为 6.9~7.5。本发明的注射液可有效控制可见异物的产生, 可提高融合蛋白的物理稳定性和化学稳定性, 从而可降低潜在的安全性风险以及延长的货架期。

根据本发明的实施例, 所述的注射液不包含依地酸二钠或依地酸钙钠。

在本申请的一个可选实施例中, 上述多个方面的注射液还可以进一步包括防腐剂。

在本申请的一个可选实施例中, 所述防腐剂至少选自苯酚、间甲酚、苯甲醇、苯氧基乙醇之一。

在本申请的一个可选实施例中, 所述苯酚在组合物或注射液中的浓度为 0~7 mg/mL, 例如 0.1 mg/mL、0.5 mg/mL、1.0 mg/mL、1.5 mg/mL、2.0 mg/mL、2.5 mg/mL、3.0 mg/mL、3.5 mg/mL、4.0 mg/mL、4.5 mg/mL、5.0 mg/mL、5.5 mg/mL、6.0 mg/mL、6.5 mg/mL、7.0 mg/mL, 或者为任意两个值作为端点值之间的范围值 (例如 3~7mg/mL、2~4 mg/mL)。

在本申请的一个可选实施例中, 所述间甲酚在组合物或注射液中的浓度为 0~4 mg/mL, 例如 0.1 mg/mL、0.5 mg/mL、1.0 mg/mL、1.5 mg/mL、2.0 mg/mL、2.5 mg/mL、3.0 mg/mL、3.5 mg/mL、4.0 mg/mL, 或者为任意两个值作为端点值之间的范围值 (例如 2~4mg/mL)。

在本发明的另一方面, 本发明提出了一种注射液。根据本发明的实施例, 所述注射液包括: GLP-1-Fc-FGF21 融合蛋白、柠檬酸盐缓冲液、甘露醇、聚山梨酯 80 和任选地依地酸二钠或依地酸钙钠; 所述 GLP-1-Fc-FGF21 融合蛋白具有如 SEQ ID NO:1~12 任一项所示的氨基酸序列, 所述 GLP-1-Fc-FGF21 融合蛋白在所述注射液中的浓度为 3~25 mg/mL; 所述柠檬酸盐缓冲液在所述组合物中的浓度为 5~20 mM; 所述甘露醇在所述组合物中的浓度为 40~50 mg/mL; 所述聚山梨酯 80 在所述组合物中的浓度为 0.1~1.5 mg/mL; 所述金属螯合剂在所述组合物中的浓度为 0.05~0.5 mg/mL; 所述注射液的 pH 值为 6.4~8.0。本发明的注射液可有效控制可见异物以及聚集体的产生, 可提高融合蛋白的物理稳定性和化学稳定性, 从而可降低潜在的安全性风险以及延长的货架期。

在本发明的一些可选实施例中, 所述 GLP-1-Fc-FGF21 融合蛋白具有如 SEQ ID NO:1 所示的氨基酸序列。在本发明的一些可选实施例中, 所述 GLP-1-Fc-FGF21 融合蛋白具有如 SEQ ID NO:2 所示的氨基酸序列。在本发明的一些可选实施例中, 所述 GLP-1-Fc-FGF21 融合蛋白具有如 SEQ ID NO:3 所示的氨基酸序列。在本发明的一些可选实施例中, 所述 GLP-1-Fc-FGF21 融合蛋白具有如 SEQ ID NO:4 所示的氨基酸序列。在本发明的一些可选实施例中, 所述 GLP-1-Fc-FGF21 融合蛋白具有如 SEQ ID NO:5 所示的氨基酸序列。在本发明的一些可选实施例中, 所述 GLP-1-Fc-FGF21 融合蛋白具有如 SEQ ID NO:6 所示的氨基酸序列。在本发明的一些可选实施例中, 所述 GLP-1-Fc-FGF21 融合蛋白具有如 SEQ ID NO:7 所示的氨基酸序列。在本发明的一些可选实施例中, 所述 GLP-1-Fc-FGF21 融合蛋白具有如 SEQ ID NO:8 所示的氨基酸序列。在本发明的一些可选实施例中, 所述 GLP-1-Fc-FGF21 融合蛋白具有如 SEQ ID NO:9 所示的氨基酸序列。在本发明的一些可选实施例中, 所述 GLP-1-Fc-FGF21 融合蛋白具有如 SEQ ID NO:10 所示的氨基酸序列。在本发明的一些可选实施例中, 所述 GLP-1-Fc-FGF21 融合蛋白具有如 SEQ ID NO:11 所示的氨基酸序列。在本发明的一些可选实施例中, 所述 GLP-1-Fc-FGF21 融合蛋白具有如 SEQ ID NO:12 所示的氨基酸序列。

在本发明的一些可选实施例中，所述柠檬酸盐缓冲液在所述注射液中的浓度为 8~20 mM。在本发明的一些可选实施例中，所述柠檬酸盐缓冲液在所述注射液中的浓度为 10~20 mM。在本发明的一些可选实施例中，所述柠檬酸盐缓冲液在所述注射液中的浓度为 10~15 mM。

根据本发明的实施例，所述注射液包括：GLP-1-Fc-FGF21 融合蛋白、柠檬酸盐缓冲液、甘露醇、聚山梨酯 80 和任选地依地酸二钠或依地酸钙钠；所述 GLP-1-Fc-FGF21 融合蛋白包含如 SEQ ID NO:1 所示的氨基酸序列，所述 GLP-1-Fc-FGF21 融合蛋白在所述注射液中的浓度为 3~25 mg/mL；所述柠檬酸盐缓冲液在所述注射液中的浓度为 5~25 mM、8~20 mM、10~20 mM、或 10~15 mM；所述甘露醇在所述注射液中的浓度为 40~50 mg/mL；所述聚山梨酯 80 在所述注射液中的浓度为 0.1~0.5 mg/mL；所述金属螯合剂在所述注射液中的浓度为 0.05~0.5 mg/mL；所述注射液的 pH 值为 6.4~8.0。

根据本发明的实施例，所述的注射液不包含依地酸二钠或依地酸钙钠。

在本申请的一个可选实施例中，上述多个方面的注射液还可以进一步包括防腐剂。

在本申请的一个可选实施例中，所述防腐剂至少选自苯酚、间甲酚、苯甲醇、苯氧基乙醇之一。

在本申请的一个可选实施例中，所述苯酚在组合物或注射液中的浓度为 0~7 mg/mL，例如 0.1 mg/mL、0.5 mg/mL、1.0 mg/mL、1.5 mg/mL、2.0 mg/mL、2.5 mg/mL、3.0 mg/mL、3.5 mg/mL、4.0 mg/mL、4.5 mg/mL、5.0 mg/mL、5.5 mg/mL、6.0 mg/mL、6.5 mg/mL、7.0 mg/mL，或者为任意两个值作为端点值之间的范围值（例如 3~7mg/mL、2~4 mg/mL）。

在本申请的一个可选实施例中，所述间甲酚在组合物或注射液中的浓度为 0~4 mg/mL，例如 0.1 mg/mL、0.5 mg/mL、1.0 mg/mL、1.5 mg/mL、2.0 mg/mL、2.5 mg/mL、3.0 mg/mL、3.5 mg/mL、4.0 mg/mL，或者为任意两个值作为端点值之间的范围值（例如 2~4mg/mL）。

在本发明的另一方面，本发明提出了一种注射液。根据本发明的实施例，所述注射液包括：GLP-1-Fc-FGF21 融合蛋白、柠檬酸盐缓冲液、聚山梨酯 80 和任选地依地酸二钠或依地酸钙钠，以及蔗糖或海藻糖；所述 GLP-1-Fc-FGF21 融合蛋白具有如 SEQ ID NO:1~12 任一项所示的氨基酸序列，所述 GLP-1-Fc-FGF21 融合蛋白在所述注射液中的浓度为 3~25 mg/mL；所述柠檬酸盐缓冲液在所述组合物中的浓度为 5~20 mM；所述蔗糖在所述组合物中的浓度为 85~95 mg/mL；所述海藻糖在所述组合物中的浓度为 55~65 mg/mL；所述聚山梨酯 80 在所述组合物中的浓度为 0.1~1.5 mg/mL；所述注射液的 pH 值为 6.4~8.0。本发明的注射液可有效控制可见异物以及聚集体的产生，可提高融合蛋白的物理稳定性和化学稳定性，从而可降低潜在的安全性风险以及延长的货架期。

在本发明的一些可选实施例中，所述 GLP-1-Fc-FGF21 融合蛋白具有如 SEQ ID NO:1 所示的氨基酸序列。在本发明的一些可选实施例中，所述 GLP-1-Fc-FGF21 融合蛋白具有如 SEQ ID NO:2 所示的氨基酸序列。在本发明的一些可选实施例中，所述 GLP-1-Fc-FGF21 融合蛋白具有如 SEQ ID NO:3 所示的氨基酸序列。在本发明的一些可选实施例中，所述 GLP-1-Fc-FGF21 融合蛋白具有如 SEQ ID NO:4 所示的氨基酸序列。在本发明的一些可选实施例中，所述 GLP-1-Fc-FGF21 融合蛋白具有如 SEQ ID NO:5 所示的氨基酸序列。在本发明的一些可选实施例中，所述 GLP-1-Fc-FGF21 融合蛋白具有如 SEQ ID NO:6 所示的氨基酸序列。在本发明的一些可选实施例中，所述 GLP-1-Fc-FGF21 融合蛋白具有如 SEQ ID NO:7 所示的氨基酸序列。在本发明的一些可选实施例中，所述 GLP-1-Fc-FGF21 融合蛋白具有如 SEQ ID NO:8 所示的氨基酸序列。在本发明的一些可选实施例中，所述 GLP-1-Fc-FGF21 融合蛋白具有如 SEQ ID NO:9 所示的氨基酸序列。在本发明的一些可选实施例中，所述 GLP-1-Fc-FGF21 融合蛋白具有如 SEQ ID NO:10 所示的氨基酸序列。在本发明的一些可选实施例中，所述 GLP-1-Fc-FGF21 融合蛋白具有如 SEQ ID NO:11 所示的氨基酸序列。在本发明的一些可选实施例中，所述 GLP-1-Fc-FGF21 融合蛋白具有如 SEQ ID NO:12 所示的氨基酸序列。

在本发明的一些可选实施例中，所述柠檬酸盐缓冲液在所述注射液中的浓度为 8~20 mM。在本发明的一些可选实施例中，所述柠檬酸盐缓冲液在所述注射液中的浓度为 10~20 mM。在本发明的一些可选实施例中，所述柠檬酸盐缓冲液在所述注射液中的浓度为 10~15 mM。

根据本发明的实施例，所述注射液包括：GLP-1-Fc-FGF21 融合蛋白、柠檬酸盐缓冲液和聚山梨酯 80，以及蔗糖或海藻糖，和任选地依地酸二钠或依地酸钙钠；所述 GLP-1-Fc-FGF21 融合蛋白包含如 SEQ ID NO:1 所示的氨基酸序列，所述 GLP-1-Fc-FGF21 融合蛋白在所述注射液中的浓度为 3~25 mg/mL；所述柠檬酸盐缓冲液在所述注射液中的浓度为 5~25 mM、8~20 mM、10~20 mM、或 10~15 mM；所述蔗糖在所述注射液中的浓度为 80~95 mg/mL；所述海藻糖在所述注射液中的浓度为 55~65 mg/mL；所述聚山梨酯 80 在所述注射液中的浓度为 0.1~0.5 mg/mL；所述注射液的 pH 值为 6.4~8.0。

根据本发明的实施例，所述的注射液不包含依地酸二钠或依地酸钙钠。

在本申请的一个可选实施例中，上述多个方面的注射液还可以进一步包括防腐剂。

在本申请的一个可选实施例中，所述防腐剂至少选自苯酚、间甲酚、苯甲醇、苯氧基乙醇之一。

在本申请的一个可选实施例中，所述苯酚在组合物或注射液中的浓度为 0~7 mg/mL，例如 0.1 mg/mL、0.5 mg/mL、1.0 mg/mL、1.5 mg/mL、2.0 mg/mL、2.5 mg/mL、3.0 mg/mL、3.5 mg/mL、4.0 mg/mL、4.5 mg/mL、5.0 mg/mL、5.5 mg/mL、6.0 mg/mL、6.5 mg/mL、7.0 mg/mL，或者为任意两个值作为端点值之间的范围值（例如 3~7mg/mL、2~4 mg/mL）。

在本申请的一个可选实施例中，所述间甲酚在组合物或注射液中的浓度为 0~4 mg/mL，例如 0.1 mg/mL、0.5 mg/mL、1.0 mg/mL、1.5 mg/mL、2.0 mg/mL、2.5 mg/mL、3.0 mg/mL、3.5 mg/mL、4.0 mg/mL，或者为任意两个值作为端点值之间的范围值（例如 2~4mg/mL）。

用途

在本发明的另一方面，本发明提出了一种前述的组合物或前述的注射液在制备药物中的用途，所述药物用于治疗/和/或预防代谢性疾病。

在本发明的一些可选实施例中，所述代谢性疾病包括糖尿病、肥胖、高血脂和与脂肪肝相关的疾病。

在本发明的一些可选实施例中，所述脂肪肝相关的疾病包括非酒精性脂肪性肝病、非酒精性脂肪性肝炎、肝纤维化和肝硬化。

治疗和/或预防代谢性疾病的方法

在本发明的另一方面，本发明提出了一种治疗和/或预防代谢性疾病的方法。根据本发明的实施例，所述方法包括：向受试者施用药学上可接受量的前述的组合物或前述的注射液。

本发明所述的组合物或注射液的有效量可随给药的模式和待治疗的疾病的严重程度等而变化。优选的有效量的选择可以由本领域普通技术人员根据各种因素来确定(例如通过临床试验)。所述的因素包括但不限于：所述的活性成分的药代动力学参数例如生物利用率、代谢、半衰期等；患者所要治疗的疾病的严重程度、患者的体重、患者的免疫状况、给药的途径等。例如，由治疗状况的迫切要求，例如按照每天一次、每隔一天一次、每周一次、每两周一次的剂量施用。

在本发明的一些可选实施例中，所述方法的给药途径包括皮下注射或静脉注射，优选为皮下注射。

注射装置或容器

在本发明的另一方面，本发明提出了一种注射装置或容器。根据本发明的实施例，所述注射装置或容器包括：前述的组合物或前述的注射液。

在本发明的一些可选实施例中，所述注射装置或容器包括选自容纳瓶、西林瓶、卡式瓶和注射器中的至少之一。

在本发明的一些可选实施例中，所述注射器包括选自自动注射器和预填充注射器中的至少之一。

下面将结合实施例对本发明的方案进行解释。本领域技术人员将会理解，下面的实施例仅用于说明本发明，而不应视为限定本发明的范围。实施例中未注明具体技术或条件的，按照本领域内的文献所描述的技术或条件或者按照产品说明书进行。所用试剂或仪器未注明生产厂商者，均为可以通过市购获得的常规产品。

需要说明的是，本发明实施例 1 中的 GLP-1-Fc-FGF21 双靶融合蛋白的氨基酸序列如 SEQ ID NO:1 所示，采用本领域常规方法制备得到。

实施例 1：

1、不同缓冲体系制备的注射液的考察

1.1 采用不同的缓冲体系制备低浓度的注射液制剂 A1~A3，注射液中 GLP-1-Fc-FGF21 双靶融合蛋白（简称融合蛋白，即 API）的终浓度和各辅料的种类及其终浓度具体参见表 1，注射液的制备方法为：按照表 1 处方量称量辅料和 API 混合，必要时，使用 2%的盐酸溶液或 2% 的氢氧化钠溶液将制剂 pH 调到相应的值，最后加注射用水定容。配液完后用 0.45μm 及 0.22μm PVDF 滤膜串联过滤药液到 1ml 细长预灌封注射器中，装量每支 1ml，塞上胶塞密封。然后将制剂 A1~A3 进行高温稳定性研究，高温 40℃ 条件下放置 0 天、10 天和 14 天的 SEC-HPLC 稳定性检测结果见表 2。

表 1：制剂 A1~A3 中各成分的配比

制剂	GLP-1-Fc-FGF21 双靶融合蛋白的浓度 (mg/ml)	缓冲体系及其用量	甘露醇 (mg/ml)	聚山梨酯 80 (mg/ml)	pH 值
A1	2mg/ml	一水柠檬酸 (0.14 mg/ml)、二水柠檬酸钠 (2.74mg/ml)，即 10mM	46.4	0.2	6.5
A2	2mg/ml	一水磷酸二氢钠(0.846mg/ml)、无水磷酸氢二钠 (0.549mg/ml)，即磷酸盐缓冲液 10mM	46.4	0.2	6.5
A3	2mg/ml	组氨酸(1.552mg/ml，即 10mM)、盐酸 (0.324mg/ml)	46.4	0.2	6.5

表 2：制剂 A1~A3 在高温 40℃条件下的稳定性结果

检测项目	制剂	高温 40℃		
		0 天	10 天	14 天
SEC-纯度（单体包括肩峰）（%）	A1	96.91	97.42	96.92
	A2	96.64	96.54	96.33
	A3	97.84	96.20	95.51
SEC-纯度（聚合物）（%）	A1	2.21	1.00	1.27
	A2	2.62	1.08	1.07
	A3	1.50	1.30	1.38
RP-HPLC-纯度（主峰）（%）	A1	72.17	60.74	56.30
	A2	72.58	51.97	46.69
	A3	74.58	52.64	42.14
RP-HPLC-纯度（总有	A1	27.83	39.26	43.70

检测项目 关物质) (%)	制剂	高温 40℃		
		0 天	10 天	14 天
	A2	27.42	48.03	53.31
	A3	25.42	47.36	57.86
	A1	符合规定	符合规定	符合规定
可见异物*	A2	符合规定	符合规定	不符合规定
	A3	符合规定	符合规定	不符合规定

注：(1) 上表的“*”处以及以下全文中“*”处的可见异物符合规定，是指符合 ChP 2015 版IV部通则 0904 的规定。可见异物不符合规定，是指不符合 ChP 2015 版IV部通则 0904 的规定。

(2) 上表中 RP-HPLC-纯度（主峰）在 0 天时主峰纯度较低的原因，主要是本实施例直接采用的 API 原液的反相主峰纯度不高，因此，本实施例中的数据仅用于制剂处方的筛选，不代表本申请实际的融合蛋白样品的纯度，同本实施例的制剂 A4~A37。

由表 2 可知，柠檬酸盐缓冲体系中 RP-HPLC 主峰纯度下降速率最慢，且在高温 40℃、14 天时，可见异物均符合规定。因此，对于低浓度的融合蛋白制剂，柠檬酸盐缓冲体系化学稳定性和物理稳定性相对较好。

由于不同的缓冲体系还可能对蛋白的热稳定性产生不同的影响，因此，进一步通过 DSC 法（差式扫描量热法）测定制剂 A1~A3 在不同缓冲体系中的 T_m 值和 Tonset 值，以蛋白质热变性过程的温度变化研究比较各种因素对蛋白质热稳定性的影响差异。DSC 检测结果如表 3 所示。其中，Tonset 和 T_m 值是热稳定性的指标，Tonset 值是蛋白发生去折叠的起始温度，T_m 值是蛋白热转变中点温度，一般而言，Tonset 值和 T_m 值越高，蛋白质越稳定，在低温环境中也越不容易去折叠和变性。

表 3：制剂 A1~A3 的 DSC 检测结果

制剂	pH	T _{onset} (°C)	T _{m1} (°C)	T _{m2} (°C)
A1	6.5	60.92	66.78	84.40
A2	6.5	60.23	66.64	83.71
A3	6.5	56.36	64.39	83.91

由表 3 可知，对比 Tonset、T_{m1} 和 T_{m2} 值，对于低浓度的融合蛋白制剂，在柠檬酸盐（制剂 A1）和磷酸盐缓冲液（制剂 A2）中的热稳定性优于组氨酸缓冲体系（制剂 A3）。

1.2 采用不同的缓冲体系制备高浓度的注射液制剂 F1~F4，注射液中 GLP-1-Fc-FGF21 双靶融合蛋白（简称融合蛋白）的终浓度和各辅料的种类及其终浓度具体参见表 4。注射液的制备方法为：对融合蛋白原液进行超滤浓缩、换液后，检测蛋白浓度，然后再用相应的缓冲体系将融合蛋白溶液稀释到 25mg/ml，如有必要，使用 2%盐酸或者 2%氢氧化钠溶液调 pH 到 7.0。配液完后，用 0.45μm 及 0.22μm PVDF 滤膜串联过滤药液到 2R 的中硼硅西林瓶中，装量每支 1ml，塞上胶塞，扎上铝塑组合盖密封。然后将制剂 F1~F4 进行高温稳定性研究，高温 40℃条件下放置 14 天的 SEC-HPLC 聚集体变化速率（天/%）结果见表 5-1、表 5-2 和表 5-3。

表 4：制剂 F1~F4 中各成分的配比

制剂	GLP-1-Fc-FGF21 双靶融合蛋白的浓度 (mg/ml)	缓冲体系种类	缓冲体系用量	pH
F1	25	柠檬酸钠	20mM	7.0
F2	25	组氨酸	20mM	7.0

F3	25	无水磷酸氢二钠、一水磷酸二氢钠	20mM	7.0
F4	25	Tris	20mM	7.0
F54	40	一水柠檬酸、二水柠檬酸钠	10 mM	7.0

表 5-1：制剂 F1~F4 在高温 40℃条件下放置 14 天的 SEC-HPLC 聚集体变化速率（天/%）

制剂	0 天-SEC 聚集体（%）	高温 40℃ 14 天-SEC 聚集体（%）	变化速率（%/天）
F1	1.59	4.27	0.19
F2	1.06	1.63	0.04
F3	1.57	3.72	0.15
F4	1.55	3.87	0.17
F54	2.46	4.14	0.12

表 5-2：制剂 F1~F4 在高温 40℃条件下放置 14 天的 IEX-HPLC 主峰变化速率（天/%）

制剂	0 天-IEX 主峰（%）	高温 40℃ 14 天- IEX 主峰（%）	变化速率（%/天）
F1	58.69	41.02	1.26
F2	56.90	42.56	1.02
F3	57.04	35.91	1.51
F4	55.73	43.10	0.90

表 5-3：制剂 F1~F4 在高温 40℃条件下放置 14 天的 RP-HPLC 总杂变化速率（天/%）

制剂	0 天-RP-HPLC 总杂（%）	高温 40℃ 14 天- RP-HPLC 总杂（%）	变化速率（%/天）
F1	21.80	31.06	0.66
F2	22.30	33.99	0.83
F3	20.54	31.34	0.77
F4	22.18	30.64	0.60

由表 5-1 可知，在高温 40℃条件下 14 天后，柠檬酸钠缓冲液（制剂 F1）、磷酸盐缓冲液（制剂 F3）以及 Tris 缓冲液（制剂 F4）体系下，SEC 聚集体增长较快，组氨酸缓冲液（制剂 F2）能够明显降低 SEC 聚集体的增长速率（SEC 聚集体标准是 5%）；RP-HPLC 总杂（总杂标准 40%），四种制剂变化速率相当。因此，可进一步说明融合蛋白的浓度大于等于 25 mg/ml 时，组氨酸缓冲液制备的制剂稳定性较高，但不同缓冲体系的制剂稳定性数据均在可接受标准范围内。

2、不同 pH 制备的注射液的考察

2.1 采用不同的 pH 值制备低浓度的注射液制剂 A4~A8，注射液中 GLP-1-Fc-FGF21 双靶融合蛋白（简称融合蛋白，即 API）的终浓度和各辅料的种类及其终浓度具体参见表 6，注射液的制备方法为：按照下表处方量称量辅料和 API 混合，如有必要，使用 2%的盐酸溶液或 2% 的氢氧化钠溶液将制剂 pH 调到相应的值，最后加注射用水定容。配液完后用 0.45μm 及 0.22μm PVDF 滤膜串联过滤药液到 1ml 细长预灌封注射器中，装量每支 1ml，塞上胶塞密封。然后将制剂 A4~A8 进行高温稳定性研究和长期稳定性研究，高温 40℃条件下放置 0 天、10 天和 14 天的 SEC-HPLC 稳定性检测结果见表 7，在 4℃冰箱条件下放置 0 月、1 月、6 月、12 月的 SEC-HPLC 稳定性检测结果见表 8。

表 6：制剂 A4~A8 中各成分的配比

制剂	GLP-1-Fc-FGF21 双靶融合蛋白的浓度 (mg/ml)	缓冲体系及其用量（10 mM）	甘露醇 (mg/ml)	聚山梨酯 80 (mg/ml)	pH 值
----	----------------------------------	-----------------	-------------	-----------------	------

制剂	GLP-1-Fc-FGF21 双靶融合蛋白的浓度 (mg/ml)	缓冲体系及其用量 (10 mM)	甘露醇 (mg/ml)	聚山梨酯 80 (mg/ml)	pH 值
A4	2	一水柠檬酸 (0.14mg/ml)、二水柠檬酸钠 (2.74mg/ml)	46.4	0.2	6.0
A5	2	一水柠檬酸 (0.14mg/ml)、二水柠檬酸钠 (2.74mg/ml)	46.4	0.2	6.5
A6	2	一水柠檬酸 (0.14mg/ml)、二水柠檬酸钠 (2.74mg/ml)	46.4	0.2	7.0
A7	2	一水柠檬酸 (0.14mg/ml)、二水柠檬酸钠 (2.74mg/ml)	46.4	0.2	7.5
A8	2	一水柠檬酸 (0.14mg/ml)、二水柠檬酸钠 (2.74mg/ml)	46.4	0.2	8.0

表 7：制剂 A4~A8 在高温 40℃条件下的稳定性结果

检测项目	制剂	高温 40℃		
		0 天	7 天	14 天
SEC-纯度 (单体包括肩峰) (%)	A4	94.01	95.53	94.67
	A5	94.77	97.32	96.87
	A6	95.01	97.92	97.17
	A7	95.40	97.94	97.48
	A8	94.99	97.81	97.42
SEC-纯度 (聚合体) (%)	A4	5.91	4.29	4.52
	A5	5.23	2.53	2.42
	A6	4.91	1.91	2.05
	A7	4.60	1.85	1.65
	A8	4.98	1.94	1.65
RP-HPLC-纯度 (主峰+峰 4) (%)	A4	73.79	68.07	61.59
	A5	72.64	70.38	66.27
	A6	75.26	71.14	67.71
	A7	72.71	70.99	69.28
	A8	74.36	71.69	67.83
RP-HPLC-纯度 (总有关物质) (%)	A4	26.21	31.93	38.41
	A5	27.36	29.62	33.73
	A6	24.74	28.86	32.29
	A7	27.29	29.01	30.72
	A8	25.64	28.31	32.17
可见异物*	A4	符合规定	符合规定	不符合规定
	A5	符合规定	符合规定	不符合规定
	A6	符合规定	符合规定	符合规定
	A7	符合规定	符合规定	不符合规定
	A8	符合规定	符合规定	不符合规定

表 8：制剂 A4~A8 在 4℃条件下的稳定性结果

检测项目	制剂	长期 4℃			
		0 月	1 月	6 月	12 月
SEC-纯度 (单体包括肩峰) (%)	A4	94.01	94.09	93.58	92.93
	A5	94.77	94.64	94.61	94.64
	A6	95.01	94.94	95.13	95.02
	A7	95.40	95.12	95.26	95.14
	A8	94.99	95.14	95.20	95.00
SEC-纯度 (聚合体) (%)	A4	5.91	5.55	5.33	5.91
	A5	5.23	5.02	4.28	4.16
	A6	4.91	4.66	3.69	3.56
	A7	4.60	4.50	3.47	3.20
	A8	4.98	4.48	3.44	3.12
RP-HPLC- 纯度(主峰+ 峰 4) (%)	A4	73.79	75.80	69.84	66.03
	A5	72.64	74.96	66.81	66.74
	A6	75.26	74.28	68.32	64.97
	A7	72.71	76.21	67.47	63.52
	A8	74.36	74.66	66.39	61.76
RP-HPLC- 纯度(总有关 物质) (%)	A4	26.21	24.20	30.16	33.97
	A5	27.36	25.04	33.19	33.26
	A6	24.74	25.72	31.68	35.03
	A7	27.29	23.79	32.53	36.48
	A8	25.64	25.34	33.61	38.24
可见异物*	A4	符合规定	符合规定	符合规定	不符合规定
	A5	符合规定	符合规定	符合规定	符合规定
	A6	符合规定	符合规定	符合规定	符合规定
	A7	符合规定	符合规定	符合规定	符合规定
	A8	符合规定	符合规定	符合规定	符合规定

由表 7 和表 8 可知，pH 为 6.0 时，高温 40℃条件下注射液的 RP-HPLC-主峰纯度下降速率最快、二聚体含量最高、稳定性最差，且长期 12 月可见异物不符合规定、SEC-纯度（单体包括肩峰）下降速率最快、二聚体含量最高、稳定性最差，其余 pH 值组的化学稳定性良好。

由于不同的缓冲体系还可能对蛋白的热稳定性产生不同的影响，因此，进一步通过 DSC 法（差式扫描量热法）测定制剂 A4~A8 在不同缓冲体系中的 Tm 值和 Tonset 值，以蛋白质热变性过程的温度变化研究比较各种因素对蛋白质热稳定性的影响差异。DSC 检测结果如表 9 所示。

表 9：制剂 A4~A8 的 DSC 检测结果

制剂	pH	Tonset (°C)	Tm1 (°C)	Tm2 (°C)
A4	6.0	57.86	64.79	84.29
A5	6.5	60.62	66.49	84.37
A6	7.0	60.78	67.45	84.00

制剂	pH	Tonset (°C)	Tm1 (°C)	Tm2 (°C)
A7	7.5	59.92	67.94	83.69
A8	8.0	60.35	67.84	83.58

由表 9 DSC 检测结果可知，pH 为 6.0 时热稳定性最差，其余组均较好。

进一步细化研究 pH 为 6.0 到 7.0 之间对产品稳定性的影响。采用不同的 pH 值制备注射液制剂 A9~A15，注射液中 GLP-1-Fc-FGF21 双靶融合蛋白（简称融合蛋白）的终浓度和各辅料的种类及其终浓度具体参见表 10，注射液的制备方法为具体参见实施例 1 的步骤 2.1 中制剂 A4~A8 的制备方法。然后将制剂 A9~A15 进行高温稳定性研究和 DSC 检测，高温 40°C条件下放置 0 天、10 天、14 天和 21 天的 SEC-HPLC 稳定性检测结果见表 11，DSC 检测结果见表 12。

表 10：制剂 A9~A15 中各成分的配比

制剂	GLP-1-Fc-FGF21 双靶融合蛋白的浓度 (mg/ml)	缓冲体系及其用量（10 mM）	甘露醇 (mg/ml)	聚山梨酯 80 (mg/ml)	pH 值
A9	3	一水柠檬酸（0.14mg/ml）、二水柠檬酸钠（2.74mg/ml）	46.4	0.2	6.0
A10	3	一水柠檬酸（0.14mg/ml）、二水柠檬酸钠（2.74mg/ml）	46.4	0.2	6.2
A11	3	一水柠檬酸（0.14mg/ml）、二水柠檬酸钠（2.74mg/ml）	46.4	0.2	6.4
A12	3	一水柠檬酸（0.14mg/ml）、二水柠檬酸钠（2.74mg/ml）	46.4	0.2	6.5
A13	3	一水柠檬酸（0.14mg/ml）、二水柠檬酸钠（2.74mg/ml）	46.4	0.2	6.6
A14	3	一水柠檬酸（0.14mg/ml）、二水柠檬酸钠（2.74mg/ml）	46.4	0.2	6.8
A15	3	一水柠檬酸（0.14mg/ml）、二水柠檬酸钠（2.74mg/ml）	46.4	0.2	7.0

表 11：制剂 A9~A15 在高温 40°C条件下的稳定性结果

检测项目	制剂	高温 40°C			
		0 天	7 天	14 天	21 天
SEC-纯度（单体包括肩峰）（%）	A9	98.53	96.55	95.60	94.51
	A10	98.76	97.48	97.69	96.92
	A11	98.84	98.30	98.33	97.70
	A12	98.96	98.52	98.49	98.44
	A13	98.94	98.61	98.86	98.58
	A14	99.07	98.68	98.84	98.40
	A15	99.05	98.92	98.91	98.45
SEC-纯度（聚合体）（%）	A9	1.42	3.33	3.96	4.89
	A10	1.21	2.25	2.26	2.59
	A11	1.16	1.52	1.58	1.86
	A12	0.98	1.30	1.24	1.41
	A13	1.00	1.28	1.12	1.32
	A14	0.93	1.08	0.95	1.11

检测项目	制剂	高温 40℃			
		0 天	7 天	14 天	21 天
RP-HPLC-纯度 (主峰+峰 4) (%)	A15	0.87	0.86	0.84	0.98
	A9	79.70	71.50	68.83	57.11
	A10	80.87	73.32	71.48	62.33
	A11	81.86	73.89	72.21	68.16
	A12	83.53	75.84	73.67	68.29
	A13	79.84	74.58	71.33	67.68
	A14	79.51	76.35	74.05	69.42
RP-HPLC-纯度 (总有关物质) (%)	A15	79.41	75.29	74.36	71.17
	A9	20.30	28.51	31.18	42.89
	A10	19.13	26.68	28.52	37.67
	A11	18.14	26.11	27.79	31.84
	A12	16.48	24.16	26.33	31.71
	A13	20.16	25.42	28.67	32.32
	A14	20.49	23.65	25.95	30.58
可见异物*	A15	20.59	24.71	25.64	28.83
	A9	符合规定	不符合规定	不符合规定	不符合规定
	A10	符合规定	符合规定	符合规定	不符合规定
	A11	符合规定	符合规定	符合规定	符合规定
	A12	符合规定	符合规定	符合规定	符合规定
	A13	符合规定	符合规定	符合规定	符合规定
	A14	符合规定	符合规定	符合规定	符合规定
	A15	符合规定	符合规定	符合规定	符合规定

表 12：制剂 A9~A15 的 DSC 检测结果

制剂	pH	T _{onset} (°C)	T _{m1} (°C)	T _{m2} (°C)
A9	6.0	58.96	64.57	84.31
A10	6.2	59.04	65.45	84.39
A11	6.4	60.36	66.50	84.37
A12	6.5	60.24	66.65	84.26
A13	6.6	60.81	66.94	84.29
A14	6.8	59.93	67.40	83.94
A15	7.0	59.80	67.55	84.09

由表 11 和表 12 可知，pH 为 6.0 和 6.2 时，Tonset 和 Tm1 值均偏低，热稳定性比其他几组差，而 pH 在 6.4 及以上时，注射液的化学稳定性、物理稳定性以及热稳定性均较好。

2.2 采用不同的 pH 制备高浓度注射液制剂 F5~F11，注射液中 GLP-1-Fc-FGF21 双靶融合蛋白（简称融合蛋白，即 API）的终浓度和各辅料的种类及其终浓度具体参见表 13。注射液的制备方法为：按照下

表处方量称量辅料和 API 混合，如有必要，使用 2%的盐酸溶液或 2% 的氢氧化钠溶液将制剂 pH 调到相应的值，最后加注射用水定容到 10ml。配液完后用 0.45µm 及 0.22µm PVDF 滤膜串联过滤药液到 1ml 细长预灌封注射器中，装量每支 0.5ml，塞上胶塞密封。然后将制剂 F1~F4 进行高温稳定性研究，高温 40℃条件下放置 20 天的 SEC-HPLC 聚集体变化速率（天/%）结果见表 14。

表 13：制剂 F5~F11 中各成分的配比

制剂	GLP-1-Fc-FGF21 双靶融合蛋白 的浓度（mg/ml）	盐酸组氨酸	甘露醇 （mg/ml）	聚山梨酯 80 （mg/ml）	pH
F5	40	10mM	46.4	0.5	6.6
F6	40	10mM	46.4	0.5	6.7
F7	40	10mM	46.4	0.5	6.9
F8	40	10mM	46.4	0.5	7.0
F9	40	10mM	46.4	0.5	7.1
F10	40	10mM	46.4	0.5	7.3
F11	40	10mM	46.4	0.5	7.5

表 14：制剂 F5~F11 在高温 40℃条件下放置 20 天的 SEC-HPLC 聚集体变化速率（天/%）

制剂	0 天-SEC 聚集体（%）	高温 40℃ 20 天-SEC 聚集体（%）	变化速率（%/天）
F5	1.46	5.53	0.20
F6	1.44	4.96	0.18
F7	1.01	3.74	0.14
F8	0.89	2.76	0.09
F9	0.93	2.55	0.08
F10	0.88	2.21	0.07
F11	0.86	2.06	0.06

由表 14 可知，高温 40℃条件下放置 20 天后，在 pH 值为 6.6-7.5 范围内，随着 pH 值升高，SEC 聚集体增长幅度变缓，当 pH 为 6.6 时，高分子蛋白于第 20 天增长至 5.53%，超过了既定的 5%的上限质量标准。在 pH 值为 6.7-7.5 时，SEC 聚集体增长速度均在 5%以下。

进一步地，对制剂 F5-F11 进行室温震荡研究，震荡时间 72h，震荡转速 600rpm。震荡实验的考察结果如下表 15 所示。

表 15：制剂 F5~F11 在室温震荡条件下放置 72h 的 SEC-HPLC 聚集体变化速率（天/%）

制剂	0h-SEC 聚集体（%）	室温震荡 72h-SEC 聚集体（%）	变化幅度（%）
F5	1.46	2.03	0.57
F6	1.44	1.96	0.52
F7	1.01	1.42	0.41
F8	0.89	1.33	0.44
F9	0.93	1.30	0.37
F10	0.88	1.22	0.34
F11	0.86	1.17	0.31

由表 15 可知，制剂 F5-F11 在震荡 72h 后，SEC-聚集体只有略微的增长，且增长幅度也是随着 pH 值升高而变缓，制剂 pH 值在 6.6-7.5 时能够防止震荡导致蛋白形成较多的聚集体。

为了进一步评估不同 pH 值对蛋白的构象稳定性和胶体稳定性，通过 NanoTemper 公司 Prometheus

NT.48 蛋白稳定性分析仪对制剂 F5-F11 进行 ThermControl 模块检测,得到蛋白的变性温度(Tm 和 Tonset)和蛋白形成聚集的起始温度 (Tagg)。检测结果如下表 16 所示。

表 16: 制剂 F5~F11 的 Tagg 及 Tm 值检测结果

制剂	Tagg (°C)	Tonset (°C)	Tm1 (°C)	Tm2 (°C)
F5	62.3	54.9	62.0	70.9
F6	62.5	55.1	62.5	80.6
F7	64.4	56.4	63.7	80.2
F8	未检测到聚集	57.1	64.2	80.3
F9	未检测到聚集	57.0	64.5	80.4
F10	未检测到聚集	58.0	65.0	80.4
F11	未检测到聚集	58.5	65.5	80.3

由表 16 可知,pH 值为 6.6 时,Tonset、Tm 以及 Tagg 相比于其他组偏低,稳定性较差。pH 值为 6.7-7.5 时,随着 pH 的升高,Tonset 和 Tm1 值升高,热稳定性越好。pH 值为 7.0-7.5 时,未检测到聚集温度 Tagg 值,胶体稳定性较好。

综上,制剂 pH 在 6.7-7.5 的范围内时,制剂的化学稳定性和物理稳定性均较好。

3、不同表面活性剂种类制备的注射液的考察

3.1 采用不同的表面活性剂制备低浓度的注射液制剂 A16~A19,注射液中 GLP-1-Fc-FGF21 双靶融合蛋白(简称融合蛋白,即 API)的终浓度和各辅料的种类及其终浓度具体参见表 17,注射液的制作方法为:按照下表处方量称量辅料和 API 混合,如有必要,使用 2%的盐酸溶液或 2% 的氢氧化钠溶液将制剂 pH 调到相应的值,最后加注射用水定容。配液完后用 0.45μm 及 0.22μm PVDF 滤膜串联过滤药液到 1ml 细长预灌封注射器中,装量每支 0.8ml,塞上胶塞密封。。然后将制剂 A16~A19 进行高温稳定性研究,高温 40℃条件下放置 0 天和 10 天的 SEC-HPLC 稳定性检测结果见表 18,高温 40℃条件下放置 10 天的 SEC-HPLC 稳定性检测结果见表 19。

表 17: 制剂 A16~A19 中各成分的配比

制剂	GLP-1-Fc-FGF21 双靶融合蛋白的浓度(mg/ml)	缓冲体系及其用量 (10 mM)	表面活性剂种类及其用量	甘露醇 (mg/ml)	pH 值
A16	3	一水柠檬酸 (0.14mg/ml)、二水柠檬酸钠 (2.74mg/ml)	聚山梨酯 80 (0.2mg/ml)	46.4	6.5
A17	3	一水柠檬酸 (0.14mg/ml)、二水柠檬酸钠 (2.74mg/ml)	聚山梨酯 20 (0.2mg/ml)	46.4	6.5
A18	3	一水柠檬酸 (0.14mg/ml)、二水柠檬酸钠 (2.74mg/ml)	泊洛沙姆 188 (8mg/ml)	46.4	6.5
A19	3	一水柠檬酸 (0.14mg/ml)、二水柠檬酸钠 (2.74mg/ml)	泊洛沙姆 407 (8mg/ml)	46.4	6.5

表 18: 制剂 A16~A19 在高温 40℃条件下的稳定性结果

检测项目	制剂	表面活性剂种类	高温 40℃	
			0 天	10 天
SEC-纯度 (单体包括肩峰) (%)	A16	聚山梨酯 80	99.07	98.81
	A17	聚山梨酯 20	99.07	98.92
	A18	泊洛沙姆 188	99.20	98.98
	A19	泊洛沙姆 407	98.08	97.90

检测项目	制剂	表面活性剂种类	高温 40℃	
			0 天	10 天
SEC-纯度 (聚合体) (%)	A16	聚山梨酯 80	0.93	1.19
	A17	聚山梨酯 20	0.93	1.08
	A18	泊洛沙姆 188	0.80	0.90
	A19	泊洛沙姆 407	0.82	0.99
RP-HPLC- 纯度(主峰+ 峰 4) (%)	A16	聚山梨酯 80	77.38	76.95
	A17	聚山梨酯 20	75.55	70.71
	A18	泊洛沙姆 188	76.69	68.22
	A19	泊洛沙姆 407	77.77	60.80
RP-HPLC- 纯度(总有关物质) (%)	A16	聚山梨酯 80	22.62	23.05
	A17	聚山梨酯 20	24.45	29.29
	A18	泊洛沙姆 188	23.31	31.78
	A19	泊洛沙姆 407	22.23	39.20
可见异物*	A16	聚山梨酯 80	符合规定	符合规定
	A17	聚山梨酯 20	符合规定	符合规定
	A18	泊洛沙姆 188	符合规定	符合规定
	A19	泊洛沙姆 407	符合规定	不符合规定

表 19：制剂 A16~A19 在高温 40℃条件下的各指标的变化速率结果

制剂	表面活性剂种类	SEC-纯度 (单体包括肩峰)日均降低速率 (%/天)	RP-HPLC-纯度(主峰+峰 4)日均降低速率 (%/天)	SEC-纯度(聚合体)日均增长速率 (%/天)	RP-HPLC-纯度(总有关物质)日均增长速率 (%/天)
A16	聚山梨酯 80	0.03	0.04	0.03	0.04
A17	聚山梨酯 20	0.01	0.48	0.02	0.48
A18	泊洛沙姆 188	0.02	0.85	0.01	0.85
A19	泊洛沙姆 407	0.02	1.70	0.02	1.70

由表 18 和表 19 可知，不同种类的表面活性剂对 SEC 纯度和聚集体影响较小，但对 RP-HPLC-纯度的影响较大，综合 RP-HPLC-纯度（主峰+峰 4）日均降低速率和 RP-HPLC-纯度（总有关物质）日均增长速率分析可知，聚山梨酯 80 或聚山梨酯 20 作为稳定剂的效果较优，但泊洛沙姆 188 作为稳定剂时制剂稳定性也在可接受标准范围内。

3.2 采用不同的表面活性剂制备高浓度的注射液制剂 F12 和 F13，注射液中 GLP-1-Fc-FGF21 双靶融合蛋白（简称融合蛋白，即 API）的终浓度和各辅料的种类及其终浓度具体参见表 20，注射液的制备方法为：按照下表称量辅料和 API 混合，如有必要，使用 2%盐酸溶液或 2%的氢氧化钠溶液将溶液 pH 调到相应的值，最后加注射用水定容到 15ml。配液完后用 0.45μm 和 0.22 μm PVDF 滤膜串联过滤药液到 1ml 细长预灌封注射器中，装量每支 0.5ml，塞上胶塞密封。然后将制剂 F12 和 F13 进行高温稳定性研究，高温 40℃条件下放置 28 天的 SEC-HPLC 聚集体变化速率（天/%）结果见表 21，外观检测结果见表 22。

表 20: 制剂 F12 和 F13 中各成分的配比

制剂	表面活性剂种类	表面活性剂用量(mg/ml)	GLP-1-Fc-FGF21 双靶融合蛋白的浓度 (mg/ml)	甘露醇 (mg/ml)	组氨酸 (mM)	制剂 pH
F12	聚山梨酯 80	1.0	40	44.5	10	7.1
F13	聚山梨酯 20	0.2	40	44.5	10	7.1

表 21: 制剂 F12~F13 在高温 40℃条件下放置 28 天的 SEC-HPLC 聚集体变化速率结果

制剂	0 天-SEC 聚集体 (%)	高温 40℃28 天-SEC 聚集体 (%)	变化速率 (%/天)
F12	1.49	2.76	0.05
F13	1.50	2.69	0.04

表 22: 制剂 F12 和 F13 在高温 40℃条件下放置 28 天的外观检测结果

制剂	0 天-外观	高温 40℃28 天-外观
F12	澄清液体带轻微乳光	澄清液体带轻微乳光
F13	澄清液体带轻微乳光	澄清液体带轻微乳光

由表 21 和表 22 可知，采用聚山梨酯 80 和聚山梨酯 20 制备的注射液均可减缓聚集体的增长，同时防止可见颗粒的形成，对融合蛋白起到了较好的稳定作用。

4、不同渗透压调节剂种类制备的注射液的考察

4.1 采用不同的渗透压调节剂种类制备低浓度的注射液制剂 A23~A25，注射液中 GLP-1-Fc-FGF21 双靶融合蛋白（简称融合蛋白）的终浓度和各辅料的种类及其终浓度具体参见表 23，注射液的制备方法为具体参见本申请实施例的步骤 2.1。然后将制剂 A23~A25 进行高温稳定性研究，高温 40℃条件下放置 0 天、7 天和 14 天的 SEC-HPLC 稳定性检测结果见表 24。

表 23: 制剂 A23~A25 中各成分的配比

制剂	GLP-1-Fc-FGF21 双靶融合蛋白的浓度 (mg/ml)	缓冲体系及其用量 (10 mM)	聚山梨酯 80 的用量 (mg/ml)	渗透压调节剂及其用量	pH 值
A23	2	一水柠檬酸 (0.14mg/ml)、二水柠檬酸钠 (2.74mg/ml)	0.2	甘露醇 (46.4mg/ml)	6.5
A24	2	一水柠檬酸 (0.14mg/ml)、二水柠檬酸钠 (2.74mg/ml)	0.2	氯化钠 (8.77mg/ml)	6.5
A25	2	一水柠檬酸 (0.14mg/ml)、二水柠檬酸钠 (2.74mg/ml)	0.2	氯化钠 (5.84mg/ml)、蔗糖 (10mg/ml)	6.5

表 24: 制剂 A23~A25 在高温 40℃条件下的稳定性结果

检测项目	渗透压调节剂种类	制剂	高温 40℃		
			0 天	10 天	14 天
SEC-纯度（单体包括肩峰） (%)	甘露醇	A23	96.91	97.42	96.92
	氯化钠	A24	97.89	97.02	96.77
	氯化钠、蔗糖	A25	97.88	96.86	96.62
SEC-纯度（聚集体） (%)	甘露醇	A23	2.21	1.00	1.27
	氯化钠	A24	1.32	1.20	1.13
	氯化钠、蔗糖	A25	1.31	1.32	1.25
RP-HPLC-纯度（主峰+峰 4）	甘露醇	A23	72.17	60.74	56.30
	氯化钠	A24	73.28	59.25	53.59

检测项目 (%)	渗透压调节剂 种类	制剂	高温 40℃		
			0 天	10 天	14 天
RP-HPLC-纯度 (总有关物质) (%)	氯化钠、蔗糖	A25	74.32	59.39	53.03
	甘露醇	A23	27.83	39.26	43.70
	氯化钠	A24	26.72	40.75	46.41
可见异物*	氯化钠、蔗糖	A25	25.68	40.61	46.97
	甘露醇	A23	符合规定	符合规定	符合规定
	氯化钠	A24	符合规定	符合规定	不符合规定
	氯化钠、蔗糖	A25	符合规定	符合规定	不符合规定

由表 24 可知，相比于氯化钠、氯化钠和蔗糖的组合，使用甘露醇的制剂的 RP-HPLC-纯度（总有关物质）增长速度最慢，可见异物较少。因此，使用甘露醇作为渗透压调节剂制备的制剂稳定性较优。

并且，通过对该甘露醇用量下的低浓度注射液的渗透压值进行检测，均与人体血浆渗透压相等或接近，其中，制剂 A12 批制剂的渗透压为 307mOsm/kg，制剂 A16 的渗透压为 310 mOsm/kg，制剂 A26 的渗透压为 309 mOsm/kg，制剂 A29 批制剂的渗透压为 325mOsm/kg。

4.2 采用不同的渗透压调节剂种类制备低浓度的注射液制剂 A34~A35，注射液中 GLP-1-Fc-FGF21 双靶融合蛋白（简称融合蛋白）的终浓度和各辅料的种类及其终浓度具体参见表 25，注射液的制备方法为具体参见本申请实施例的步骤 2.1。然后将制剂 A34~A35 进行高温稳定性研究，高温 40℃条件下放置 0 天、7 天和 14 天的 SEC-HPLC 稳定性检测结果见表 26。

表 24：制剂 A34~A35 中各成分的配比

制剂	GLP-1-Fc-FGF21 双 靶融合蛋白的浓度 (mg/ml)	缓冲体系及其用量（10 mM）	聚山梨酯 80 的用量 (mg/ml)	渗透压调节剂及其 用量	pH 值
A34	3	一水柠檬酸（0.14mg/ml）、二 水柠檬酸钠（2.74mg/ml）	0.2	蔗糖（90mg/ml）	6.5
A35	3	一水柠檬酸（0.14mg/ml）、二 水柠檬酸钠（2.74mg/ml）	0.2	海藻糖（60mg/ml）	6.5

表 25：制剂 A34~A35 在高温 40℃条件下的稳定性结果

检测项目	渗透压调节剂 种类	制剂	高温 40℃		
			0 天	10 天	14 天
SEC-纯度（单体包 括肩峰）（%）	蔗糖	A34	99.248	99.054	98.170
	海藻糖	A35	99.092	98.788	98.310
SEC-纯度（聚合 体）（%）	蔗糖	A34	0.753	0.946	1.480
	海藻糖	A35	0.907	1.117	1.680
RP-HPLC-纯度 (主峰+峰 4) (%)	蔗糖	A34	73.88	69.62	71.21
	海藻糖	A35	78.20	68.96	64.51
RP-HPLC-纯度 (总有关物质) (%)	蔗糖	A34	26.12	30.38	28.79
	海藻糖	A35	21.80	31.04	35.49
可见异物	蔗糖	A34	符合规定	符合规定	符合规定

检测项目	渗透压调节剂种类	制剂	高温 40℃		
			0 天	10 天	14 天
	海藻糖	A35	符合规定	符合规定	符合规定

使用蔗糖、海藻糖作为渗透压调节剂制备的制剂稳定性同样较优。

4.3 采用不同的渗透压调节剂制备高浓度的注射液制剂 F14 和 F15, 注射液中 GLP-1-Fc-FGF21 双靶融合蛋白（简称融合蛋白，即 API）的终浓度和各辅料的种类及其终浓度具体参见表 26，注射液的制备方法为：按照下表称量辅料和 API 混合，如有必要，使用 2%盐酸溶液或 2%的氢氧化钠溶液将溶液 pH 调到相应的值，最后加注射用水定容到 9ml。配液完后用 0.45μm 和 0.22 μm PVDF 滤膜串联过滤药液到 1ml 细长预灌封注射器中，装量每支 0.5ml，塞上胶塞密封。然后将制剂 F14 和 F15 进行高温稳定性研究，高温 40℃条件下放置 30 天的 SEC-HPLC 聚集体变化速率（天/%）结果见表 27，高温 40℃条件下放置 14 天的外观检测结果见表 28。

表 26: 制剂 F14 和 F15 中各成分的配比

制剂	渗透压调节剂种类	渗透压调节剂用量(mg/ml)	GLP-1-Fc-FGF21 双靶融合蛋白的浓度（mg/ml）	聚山梨酯 80 含量（mg/ml）	组氨酸（mM）	制剂 pH
F14	甘露醇	40	40	0.5	10	7.0
F15	蔗糖	90	40	0.5	10	7.0

表 27: 制剂 F14~F15 在高温 40℃条件下放置 30 天的 SEC-HPLC 聚集体变化速率结果

制剂	0 天-SEC 聚集体（%）	高温 40℃ 30 天-SEC 聚集体（%）	变化速率（%/天）
F14	1.99	3.43	0.05
F15	2.03	3.36	0.04

表 28: 制剂 F14 和 F15 在高温 40℃条件下放置 14 天的外观检测结果

制剂	0 天-外观	高温 40℃ 14 天-外观
F14	澄清液体带轻微乳光	澄清液体带轻微乳光
F15	澄清液体带轻微乳光	澄清液体带轻微乳光

为了进一步评估不同渗透压调节剂种类对蛋白的构象稳定性和胶体稳定性，通过 NanoTemper 公司 Prometheus NT.48 蛋白稳定性分析仪对制剂 F14-F15 进行 ThermControl 模块检测，得到蛋白的变性温度 (Tm 和 Tonset) 和蛋白形成聚集的起始温度 (Tagg)。检测结果如下表 29 所示。

表 29: 制剂 F14~F15 的 Tagg 及 Tm 值检测结果

制剂	Tagg（℃）	Tonset（℃）	Tm1（℃）	Tm2（℃）
F14	未检测到聚集	56.32	63.42	80.34
F15	未检测到聚集	56.77	64.16	80.89

由表 27~表 29 可知，甘露醇或蔗糖均能使双靶融合蛋白制剂保持较好的胶体稳定性和构象稳定性，且能够减缓蛋白的聚集速率，防止蛋白形成可见颗粒，对融合蛋白均有较好的稳定作用。

5、不同组氨酸用量制备的注射液的考察

采用不同的组氨酸用量制备高浓度的注射液制剂 F16~F18，注射液中 GLP-1-Fc-FGF21 双靶融合蛋白（简称融合蛋白，即 API）的终浓度和各辅料的种类及其终浓度具体参见表 30，注射液的制备方法为：按照下表称量辅料和 API 混合，如有必要，使用 2%盐酸溶液或 2%的氢氧化钠溶液将溶液 pH 调到相应的值，最后加注射用水定容到 10ml。配液完后用 0.45μm 和 0.22 μm PVDF 滤膜串联过滤药液到 1ml 细长预灌封注射器中，装量每支 0.5ml，塞上胶塞密封。然后将制剂 F16~F18 进行高温稳定性研究，高温

40℃条件下放置 30 天的 SEC-HPLC 聚集体变化速率（天/%）结果见表 31。

表 30: 制剂 F16~F18 中各成分的配比

制剂	盐酸组氨酸 的用量 (mM)	甘露醇用量 (mg/ml)	GLP-1-Fc-FGF21 双 靶融合蛋白的浓度 (mg/ml)	聚山梨酯 80 含 量 (mg/ml)	制剂 pH
F16	10	46.4	40	0.5	7.0
F17	15	46.4	40	0.5	7.0
F18	20	46.4	40	0.5	7.0

表 31: 制剂 F16~F18 在高温 40℃条件下放置 30 天的 SEC-HPLC 聚集体变化速率结果

制剂	0 天-SEC 聚集体 (%)	高温 40℃30 天-SEC 聚集体 (%)	变化速率 (%/天)
F16	0.89	2.76	0.09
F17	1.00	2.97	0.10
F18	0.99	3.14	0.11

由上可知，组氨酸用量为 10-20mM 时，融合蛋白的 SEC-聚集体增长速率均较慢，对融合蛋白均有较好的稳定作用。

6、不同聚山梨酯 80 用量制备的注射液的考察

6.1 采用不同的聚山梨酯 80 用量制备低浓度的注射液制剂 A20~A22 和 A32~A33，注射液中 GLP-1-Fc-FGF21 双靶融合蛋白（简称融合蛋白）的终浓度和各辅料的种类及其终浓度具体参见表 32，注射液的制备方法为具体参见本申请实施例的步骤 2.1。然后将制剂 A20~A22 和 A32~A33 进行高温稳定性研究，高温 40℃条件下放置 0 天、7 天、14 天和 28 天的 SEC-HPLC 稳定性检测结果见表 33。

表 32: 制剂 A20~A22 和 A32~A33 中各成分的配比

制剂	GLP-1-Fc-FGF21 双靶融 合蛋白的浓度(mg/ml)	缓冲体系及其用量（10 mM）	聚山梨酯 80 的用量 (mg/ml)	甘露醇 (mg/ml)	pH 值
A20	3	一水柠檬酸（0.14mg/ml）、二水柠 檬酸钠（2.74mg/ml）	0.1	46.4	6.5
A21	3	一水柠檬酸（0.14mg/ml）、二水柠 檬酸钠（2.74mg/ml）	0.2	46.4	6.5
A22	3	一水柠檬酸（0.14mg/ml）、二水柠 檬酸钠（2.74mg/ml）	0.3	46.4	6.5
A32	3	一水柠檬酸（0.14mg/ml）、二水柠 檬酸钠（2.74mg/ml）	0.4	46.4	6.5
A33	3	一水柠檬酸（0.14mg/ml）、二水柠 檬酸钠（2.74mg/ml）	0.5	46.4	6.5

表 33: 制剂 A20~A22 和 A32~A33 在高温 40℃条件下的稳定性结果

检测项目	制剂	高温 40℃			
		0 天	7 天	14 天	28 天
SEC-纯度（单体包括肩 峰）（%）	A20	98.24	98.24	97.57	96.53
	A21	98.48	98.60	97.70	96.15
	A22	98.46	98.69	97.65	96.10
	A32	98.44	98.30	97.64	95.98
	A33	98.42	98.41	97.37	95.73
SEC-纯度（聚合体）	A20	1.41	1.40	1.46	1.35

检测项目 (%)	制剂	高温 40℃			
		0 天	7 天	14 天	28 天
	A21	1.46	1.04	1.28	1.55
	A22	1.50	0.98	1.33	1.62
	A32	1.51	1.32	1.36	1.73
	A33	1.52	1.23	1.62	1.94
RP-HPLC-纯度（主峰+峰 4）（%）	A20	77.68	67.90	61.64	48.91
	A21	76.31	68.34	60.12	47.28
	A22	76.24	63.41	61.57	46.91
	A32	75.83	63.80	60.77	48.06
	A33	76.07	66.50	58.71	46.88
RP-HPLC-纯度（总有关物质）（%）	A20	22.32	32.10	38.36	51.09
	A21	23.69	31.66	39.88	52.72
	A22	23.76	36.59	38.43	53.09
	A32	24.17	36.20	39.23	51.94
	A33	23.93	33.50	41.29	53.12
不溶性微粒（≥10µm）	A20	25	/	/	69
	A21	21	/	/	16
	A22	11	/	/	30
	A32	14	/	/	39
	A33	11	/	/	83
不溶性微粒（≥25µm）	A20	2	/	/	2
	A21	5	/	/	2
	A22	9	/	/	0
	A32	0	/	/	5
	A33	2	/	/	14
可见异物*	A20	符合规定	符合规定	符合规定	符合规定
	A21	符合规定	符合规定	符合规定	符合规定
	A22	符合规定	符合规定	符合规定	符合规定
	A32	符合规定	符合规定	符合规定	符合规定
	A33	符合规定	符合规定	符合规定	符合规定

注：“/”表示未检测。

由表 33 可知，聚山梨酯 80 的用量在 0.1mg/ml~0.5mg/ml 范围内时，注射液的稳定性均较优。

6.2 采用不同的聚山梨酯 80 用量制备高浓度的注射液制剂 F19~F25，注射液中 GLP-1-Fc-FGF21 双靶融合蛋白（简称融合蛋白，即 API）的终浓度和各辅料的种类及其终浓度具体参见表 34，注射液的制备方法：按照下表称量辅料和 API 混合，如有必要，使用 2%盐酸溶液或 2%的氢氧化钠溶液将溶液 pH 调到相应的值，最后加注射用水定容到 15ml。配液完后用 0.45µm 和 0.22 µm PVDF 滤膜串联过滤药液到 1ml 细长预灌封注射器中，装量每支 0.5ml，塞上胶塞密封。然后将制剂 F19~F25 进行高温稳定性研

究，高温 40℃条件下放置 28 天的 SEC-HPLC 聚集体变化速率（天/%）结果见表 35，外观检测结果见表 36，不溶性微粒检测结果见表 37。

表 34：制剂 F19~F25 中各成分的配比

制剂	聚山梨酯 80 用量（mM）	甘露醇用量（mg/ml）	GLP-1-Fc-FGF21 双靶融合蛋白的浓度（mg/ml）	组氨酸的用量（mM）	制剂 pH
F19	0.2	44.5	40	10	7.1
F20	0.3	44.5	40	10	7.1
F21	0.4	44.5	40	10	7.1
F22	0.5	44.5	40	10	7.1
F23	0.7	44.5	50	10	7.1
F24	1.0	44.5	50	10	7.1
F25	1.3	44.5	50	10	7.1

表 35：制剂 F19~F25 在高温 40℃条件下放置 28 天的 SEC-HPLC 聚集体变化速率结果

制剂	0 天-SEC 聚集体（%）	高温 40℃ 28 天-SEC 聚集体（%）	变化速率（%/天）
F19	1.19	2.31	0.04
F20	1.21	2.46	0.04
F21	1.21	2.34	0.04
F22	1.21	2.57	0.05
F23	1.33	3.82	0.09
F24	1.32	3.76	0.09
F25	1.33	3.86	0.09

表 36：制剂 F19~F25 在高温 40℃条件下放置 28 天的外观检测结果

制剂	0 天-外观	高温 40℃28 天-外观
F19	澄清液体带轻微乳光	出现少量白色颗粒
F20	澄清液体带轻微乳光	出现少量白色颗粒
F21	澄清液体带轻微乳光	澄清液体带轻微乳光
F22	澄清液体带轻微乳光	澄清液体带轻微乳光
F23	澄清液体带轻微乳光	澄清液体带轻微乳光
F24	澄清液体带轻微乳光	澄清液体带轻微乳光
F25	澄清液体带轻微乳光	澄清液体带轻微乳光

表 37：制剂 F19~F25 在高温 40℃条件下放置 28 天的不溶性微粒检测结果

制剂	不溶性微粒≥10μm（个/ml）		不溶性微粒≥25μm（个/ml）	
	0 天	高温 40℃ 28 天	0 天	高温 40℃ 28 天
F19	3	232	0	0
F20	3	196	0	3
F21	5	7	3	3
F22	5	3	0	3
F23	12	3	0	0
F24	3	10	0	3
F25	0	0	0	0

由上可知，聚山梨酯 80 用量在 0.4~1.3 mg/ml 时，能够维持双靶融合蛋白的稳定，蛋白聚集体增长速率均较慢，不溶性微粒数目较少，防止蛋白形成可见颗粒以及减少不溶性微粒的形成。

7. 不同融合蛋白浓度制备的注射液的考察

7.1 采用不同的融合蛋白浓度制备低浓度的注射液制剂 A26~A31，注射液中 GLP-1-Fc-FGF21 双靶融合蛋白（简称融合蛋白）的终浓度和各辅料的种类及其终浓度具体参见表 38，注射液的制备方法为具体参见本申请实施例的步骤 2.1。然后将制剂 A26~A31 进行高温稳定性研究，高温 40℃条件下放置 0 天、7 天、14 天和 28 天的 SEC-HPLC 稳定性检测结果见表 39，其中，不同浓度的制剂的高温 SEC-聚集体增长趋势图参见图 1，不同浓度的制剂的高温 RP-HPLC-纯度（总有关物质）增长趋势图参见图 2。

表 38：制剂 A26~A31 中各成分的配比

制剂	GLP-1-Fc-FGF21 双靶融合蛋白的浓度 (mg/ml)	缓冲体系及其用量（10 mM）	聚山梨酯 80 的用量(mg/ml)	甘露醇的用量 (mg/ml)	pH 值
A26	3	一水柠檬酸（0.14mg/ml）、二水柠檬酸钠（2.74mg/ml）	0.2	46.4	6.5
A27	10	一水柠檬酸（0.14mg/ml）、二水柠檬酸钠（2.74mg/ml）	0.2	46.4	6.5
A28	15	一水柠檬酸（0.14mg/ml）、二水柠檬酸钠（2.74mg/ml）	0.2	46.4	6.5
A29	17	一水柠檬酸（0.14mg/ml）、二水柠檬酸钠（2.74mg/ml）	0.2	46.4	6.5
A30	20	一水柠檬酸（0.14mg/ml）、二水柠檬酸钠（2.74mg/ml）	0.2	46.4	6.5
A31	25	一水柠檬酸（0.14mg/ml）、二水柠檬酸钠（2.74mg/ml）	0.2	46.4	6.5

表 39：制剂 A26~A31 在高温 40℃条件下的稳定性结果

检测项目	制剂	高温 40 °C			
		0 天	7 天	14 天	28 天
SEC-纯度（单体包括肩峰）（%）	A26	99.18	98.95	98.81	97.83
	A27	98.86	97.70	97.73	96.22
	A28	98.94	98.18	97.26	96.43
	A29	99.07	97.99	97.18	95.31
	A30	98.76	97.01	97.03	94.78
	A31	98.94	97.56	96.47	94.60
SEC-纯度（聚集体）（%）	A26	0.82	0.99	1.06	1.68
	A27	1.12	2.26	2.17	3.30
	A28	1.06	1.74	2.48	3.24
	A29	0.93	1.90	2.64	4.10
	A30	1.22	2.95	2.92	4.66
	A31	1.06	2.33	3.33	4.97
RP-HPLC-纯度（主峰+峰 4）（%）	A26	76.91	72.01	67.54	60.86
	A27	77.18	72.10	71.80	62.89
	A28	82.21	78.33	75.01	68.99
	A29	82.97	79.29	73.80	64.38
	A30	77.71	73.65	71.78	62.13
	A31	84.36	80.26	74.89	68.01

39

检测项目	制剂	高温 40 °C			
		0 天	7 天	14 天	28 天
RP-HPLC-纯度 (总有关物质) (%)	A26	23.09	27.99	32.46	39.14
	A27	22.82	27.90	28.21	37.11
	A28	17.80	21.67	24.99	31.01
	A29	17.03	20.71	26.20	35.62
	A30	22.29	26.35	28.22	37.87
	A31	15.64	19.74	25.11	31.99
可见异物	A26	符合规定	符合规定	符合规定	符合规定
	A27	符合规定	符合规定	符合规定	不符合规定
	A28	符合规定	符合规定	符合规定	符合规定
	A29	符合规定	符合规定	符合规定	符合规定
	A30	符合规定	符合规定	符合规定	不符合规定
	A31	符合规定	符合规定	符合规定	符合规定

由表 39 和图 1~2 可知，不同浓度的制剂的 RP-HPLC-纯度（总有关物质）增长速率没有显著区别，SEC-纯度（聚合物）（%）的增长速率随着制剂浓度的增加而增加。

进一步对制剂 A29（17mg/ml）和制剂 A30（20mg/ml）长期 2-8°C 的稳定性进行考察，检测结果参见表 40。

表 40：制剂 A29~A30 在 2~8°C 条件下的稳定性结果

检测项目	制剂	长期 2-8°C							
		0 月	2 月	4.5 月	5 月	6 月	8 月	11 月	12 月
SEC-纯度（单体包括肩峰） (%)	A29	99.00	98.52	/	98.40	98.37	/	/	/
	A30	98.76	/	98.03	/	/	97.25	97.46	97.32
SEC-纯度（聚合物） (%)	A29	1.00	1.39	/	1.60	1.63	/	/	/
	A30	1.22	/	1.94	/	/	2.69	2.48	2.61
RP-HPLC-纯度（主峰+峰 4） (%)	A29	81.82	81.53	/	81.85	81.33	/	/	/
	A30	77.71	/	78.34	/	/	75.55	76.79	73.95
RP-HPLC-纯度（总有关物质） (%)	A29	18.18	18.47	/	18.15	18.67	/	/	/
	A30	22.29	/	21.66	/	/	24.45	23.21	26.05
可见异物	A29	/	符合规定	符合规定	符合规定	符合规定	/	/	/
	A30	符合规定	/	符合规定	/	/	符合规定	符合规定	/

注：“/”代表未检测。

由表 40 可知，随着贮存时间的变化，不同浓度的制剂的 RP-HPLC-纯度（主峰+峰 4）没有发生显著变化，SEC-纯度（聚合物）有略微增加的趋势，但均在可接受标准范围内（≤5%）。

7.2 采用不同的融合蛋白浓度制备低浓度的注射液制剂 F26~F29，注射液中 GLP-1-Fc-FGF21 双靶融合蛋白（简称融合蛋白）的终浓度和各辅料的种类及其终浓度具体参见表 41，注射液的制备方法为具体参见本申请实施例的步骤 2.1。然后将制剂 F26~F29 进行高温稳定性研究，高温 40°C 条件下放置 0 天、

7 天、14 天和 28 天的 SEC-HPLC 稳定性检测，结果发现不同浓度的制剂的 SEC-纯度（聚合体）有略微增加的趋势，但均在可接受标准范围内（≤5%）。本实施例示例性展示制剂 F26 的结果，具体见表 42 和表 43。

表 41：制剂 F26~F29 中各成分的配比

制剂	GLP-1-Fc-FGF21 双靶融合蛋白的浓度 (mg/ml)	缓冲体系及其用量	聚山梨酯 80 的用量(mg/ml)	甘露醇的用量 (mg/ml)	pH 值
F26	60	10mM 组氨酸	1.0	44.5	7.1
F27	70	10mM 组氨酸	1.0	44.5	7.1
F28	80	10mM 组氨酸	1.3	40	7.1
F29	90	10mM 组氨酸	1.3	40	7.1

表 42：在高温 40℃条件下放置 28 天的 SEC-HPLC 聚集体和 RP-HPLC 主峰纯度的变化速率结果

制剂	0 天-SEC 聚集体（%）	高温 40℃ 28 天-SEC 聚集体（%）	变化速率（%/天）
F26	0.61	2.65	0.07
制剂	0 天-主峰纯度%（包括峰 4）	高温 40℃ 28 天-主峰纯度%（包括峰 4）	变化速率（%/天）
F26	84.04	68.90	0.54

表 43：在高温 40℃条件下放置 28 天的外观检测结果

制剂	0 天-外观	高温 40℃28 天-外观
F26	澄清液体带轻微乳光	澄清液体带轻微乳光

8、不同缓冲体系下 EDTA 钠盐对制剂稳定性的影响

8.1 制备柠檬酸体系下含 EDTA 的低浓度注射液制剂 A36~A37，注射液中 GLP-1-Fc-FGF21 双靶融合蛋白（简称融合蛋白）的终浓度和各辅料的种类及其终浓度具体参见表 44，注射液的制备方法为具体参见本申请实施例的步骤 2.1。然后将制剂 A36~A37 进行高温稳定性研究，高温 40℃条件下放置 0 天、10 天、14 天和 28 天的 SEC-HPLC 稳定性检测结果见表 45。

表 44：制剂 A36~A37 中各成分的配比

制剂	GLP-1-Fc-FGF21 双靶融合蛋白的浓度 (mg/ml)	缓冲体系及其用量（10 mM）	聚山梨酯 80 的用量(mg/ml)	甘露醇的用量(mg/ml)	EDTA-2Na（mg/ml）	pH 值
A36	3	一水柠檬酸（0.14mg/ml）、二水柠檬酸钠（2.74mg/ml）	0.2	46.4	0	6.5
A37	3	一水柠檬酸（0.14mg/ml）、二水柠檬酸钠（2.74mg/ml）	0.2	46.4	0.115	6.5

表 45：制剂 A36~A37 在高温 40℃条件下的稳定性结果

检测项目	制剂	高温 40 °C				
		0 天	10 天	14 天	28 天	28 天变化速率（%/天）
SEC-主峰+肩峰（%）	A36	99.168	98.869	98.110	98.038	0.04
	A37	98.894	98.792	98.230	98.009	0.03
SEC-纯度（聚合体）（%）	A36	0.832	1.058	1.890	1.386	0.02
	A37	1.106	1.119	1.510	1.361	0.01
RP-HPLC-纯度	A36	74.31	70.58	65.83	60.85	0.48

检测项目	制剂	高温 40 °C				
		0 天	10 天	14 天	28 天	28 天变化速率 (%/天)
(主峰+峰 4) (%)	A37	76.26	75.52	68.40	61.84	0.52
RP-HPLC-纯度 (总有关物质) (%)	A36	25.69	29.42	34.17	39.15	0.48
	A37	23.74	24.48	31.60	38.16	0.52
IEX-主峰 (%)	A36	53.778	43.358	39.699	27.818	0.927
	A37	54.140	44.154	39.107	27.918	0.937
IEX-碱性区 (%)	A36	5.048	7.052	7.728	9.413	0.156
	A37	5.016	7.018	7.915	9.603	0.164
IEX-酸性区 (%)	A36	41.174	49.59	52.573	62.770	0.771
	A37	40.843	48.826	52.978	62.476	0.773
可见异物	A36	符合规定	符合规定	符合规定	符合规定	/
	A37	符合规定	符合规定	符合规定	符合规定	/

8.2 制备组氨酸体系下含 EDTA 的高浓度注射液制剂 F30~F31, 注射液中 GLP-1-Fc-FGF21 双靶融合蛋白(简称融合蛋白)的终浓度和各辅料的种类及其终浓度具体参见表 46, 注射液的制备方法为具体参见本申请实施例的步骤 2.1。然后将制剂 F30~F31 进行高温稳定性研究, 高温 40°C条件下放置 0 天、7 天、14 天和 30 天的 SEC-HPLC 稳定性检测结果见表 47。

表 46: 制剂 F30~F31 中各成分的配比

制剂	GLP-1-Fc-FGF21 双靶融合蛋白的浓度 (mg/ml)	缓冲体系及其用量	聚山梨酯 80 的用量(mg/ml)	甘露醇的用量(mg/ml)	EDTA-CaNa2 (mg/ml)	pH 值
F30	40	10mM 组氨酸	0.5	40	0	7
F31	40	10mM 组氨酸	0.5	40	0.1	7

表 47: 制剂 F30~F31 在高温 40°C条件下的稳定性结果

检测项目	制剂	高温 40 °C				
		0 天	10 天	14 天	30 天	30 天变化速率 (%/天)
SEC-主峰+肩峰 (%)	F30	98.0056	97.7071	97.1907	96.0708	0.06
	F31	97.9930	97.7308	97.1723	96.1026	0.06
SEC-纯度(聚合体) (%)	F30	1.9944	2.1931	2.6114	3.4294	0.05
	F31	2.0070	2.1708	2.6211	3.4091	0.05
RP-HPLC-纯度 (主峰+峰 4) (%)	F30	77.9993	74.6799	71.8277	62.4104	0.52
	F31	78.2679	74.4605	72.8191	64.3235	0.46
RP-HPLC-纯度 (总有关物质) (%)	F30	22.0007	25.3201	28.1723	37.5896	0.52
	F31	21.7321	25.5395	27.1809	35.6765	0.46
IEX-主峰 (%)	F30	54.9082	46.2929	39.4633	24.3218	1.02
	F31	55.3597	46.8038	39.7328	23.3132	1.07

检测项目	制剂	高温 40 °C				
		0 天	10 天	14 天	30 天	30 天变化速率 (%/天)
IEX-碱性区 (%)	F30	4.1656	7.0918	8.8678	11.6079	0.25
	F31	4.1609	6.7374	8.4669	11.1682	0.23
IEX-酸性区 (%)	F30	40.9262	46.6153	51.6690	64.0704	0.77
	F31	40.4793	46.4588	51.8003	65.5185	0.83
可见异物	F30	符合规定	符合规定	符合规定	不符合规定	/
	F31	符合规定	符合规定	符合规定	不符合规定	/

综上，无论是柠檬酸体系，还是组氨酸的缓冲体系，加入 EDTA 钠盐与否制剂稳定性均较优。

实施例 2：不同融合蛋白的考察

本实施例中的 GLP-1-Fc-FGF21 双靶融合蛋白 2 的氨基酸序列如 SEQ ID NO:2 所示；本实施例中的 GLP-1-Fc-FGF21 双靶融合蛋白 3 的氨基酸序列如 SEQ ID NO:3 所示；本实施例中的 GLP-1-Fc-FGF21 双靶融合蛋白 4 的氨基酸序列如 SEQ ID NO:4 所示；本实施例中的 GLP-1-Fc-FGF21 双靶融合蛋白 5 的氨基酸序列如 SEQ ID NO:5 所示；本实施例中的 GLP-1-Fc-FGF21 双靶融合蛋白 6 的氨基酸序列如 SEQ ID NO:6 所示；本实施例中的 GLP-1-Fc-FGF21 双靶融合蛋白 7 的氨基酸序列如 SEQ ID NO:7 所示；本实施例中的 GLP-1-Fc-FGF21 双靶融合蛋白 8 的氨基酸序列如 SEQ ID NO:8 所示；本实施例中的 GLP-1-Fc-FGF21 双靶融合蛋白 9 的氨基酸序列如 SEQ ID NO:9 所示；本实施例中的 GLP-1-Fc-FGF21 双靶融合蛋白 10 的氨基酸序列如 SEQ ID NO:10 所示；本实施例中的 GLP-1-Fc-FGF21 双靶融合蛋白 11 的氨基酸序列如 SEQ ID NO:11 所示；本实施例中的 GLP-1-Fc-FGF21 双靶融合蛋白 12 的氨基酸序列如 SEQ ID NO:12 所示。其中，GLP-1-Fc-FGF21 双靶融合蛋白 2~11（简称融合蛋白 2~11）均采用本领域常规方法制备得到。

1、注射液中 GLP-1-Fc-FGF21 双靶融合蛋白（简称融合蛋白）的种类和终浓度、以及各辅料的种类及其终浓度具体参见表 48，注射液的制备方法为具体参见实施例 1 的步骤 2.1。然后将制剂 A38~A31 进行稳定性研究。

表 48：制剂 A38~A31 中各成分的配比

制剂	GLP-1-Fc-FGF21 双靶融合蛋白的种类	融合蛋白的浓度 (mg/ml)	缓冲体系及其用量 (10 mM)	聚山梨酯 80 的用量 (mg/ml)	甘露醇的用量(mg/ml)	pH 值
A38	融合蛋白 2	20	一水柠檬酸 (0.14mg/ml)、二水柠檬酸钠 (2.74mg/ml)	0.2	46.4	6.5
A39	融合蛋白 3	20	一水柠檬酸 (0.14mg/ml)、二水柠檬酸钠 (2.74mg/ml)	0.2	46.4	6.5
A40	融合蛋白 4	20	一水柠檬酸 (0.14mg/ml)、二水柠檬酸钠 (2.74mg/ml)	0.2	46.4	6.5
A41	融合蛋白 5	20	一水柠檬酸 (0.14mg/ml)、二水柠檬酸钠 (2.74mg/ml)	0.2	46.4	6.5
A42	融合蛋白 6	20	一水柠檬酸 (0.14mg/ml)、二水柠檬酸钠 (2.74mg/ml)	0.2	46.4	6.5
A43	融合蛋白 7	20	一水柠檬酸 (0.14mg/ml)、二水柠檬酸钠 (2.74mg/ml)	0.2	46.4	6.5
A44	融合蛋白 8	20	一水柠檬酸 (0.14mg/ml)、二水柠檬酸钠 (2.74mg/ml)	0.2	46.4	6.5

制 剂	GLP-1-Fc-FGF21 双靶融合蛋白的种类	融合蛋白的浓度 (mg/ml)	缓冲体系及其用量 (10 mM)	聚山梨酯 80 的用量 (mg/ml)	甘露醇的用量(mg/ml)	pH 值
A45	融合蛋白 9	20	一水柠檬酸 (0.14mg/ml)、二水柠檬酸钠 (2.74mg/ml)	0.2	46.4	6.5
A46	融合蛋白 10	20	一水柠檬酸 (0.14mg/ml)、二水柠檬酸钠 (2.74mg/ml)	0.2	46.4	6.5
A47	融合蛋白 11	20	一水柠檬酸 (0.14mg/ml)、二水柠檬酸钠 (2.74mg/ml)	0.2	46.4	6.5
A48	融合蛋白 12	20	一水柠檬酸 (0.14mg/ml)、二水柠檬酸钠 (2.74mg/ml)	0.2	46.4	6.5

2、注射液 中 GLP-1-Fc-FGF21 双靶融合蛋白（简称融合蛋白）的种类和终浓度、以及各辅料的种类及其终浓度具体参见表 49，注射液的制备方法为具体参见实施例 1 的步骤 2.1。然后将制剂 F32~F53 进行稳定性研究。

表 49：制剂 F32~F53 中各成分的配比

制剂	GLP-1-Fc-FGF21 双靶融合蛋白的种类	融合蛋白的浓度(mg/ml)	缓冲体系及其用量 (10 mM)	聚山梨酯 80 的用量(mg/ml)	甘露醇的用量(mg/ml)	pH 值
F32	融合蛋白 2	40	10mM 组氨酸	1.0	44.5	7.1
F33	融合蛋白 3	40	10mM 组氨酸	1.0	44.5	7.1
F34	融合蛋白 4	40	10mM 组氨酸	1.0	44.5	7.1
F35	融合蛋白 5	40	10mM 组氨酸	1.0	44.5	7.1
F36	融合蛋白 6	40	10mM 组氨酸	1.0	44.5	7.1
F37	融合蛋白 7	40	10mM 组氨酸	1.0	44.5	7.1
F38	融合蛋白 8	40	10mM 组氨酸	1.0	44.5	7.1
F39	融合蛋白 9	40	10mM 组氨酸	1.0	44.5	7.1
F40	融合蛋白 10	40	10mM 组氨酸	1.0	44.5	7.1
F41	融合蛋白 11	40	10mM 组氨酸	1.0	44.5	7.1
F42	融合蛋白 12	40	10mM 组氨酸	1.0	44.5	7.1
F43	融合蛋白 2	80	10mM 组氨酸	1.0	44.5	7.1
F44	融合蛋白 3	80	10mM 组氨酸	1.0	44.5	7.1
F45	融合蛋白 4	80	10mM 组氨酸	1.0	44.5	7.1
F46	融合蛋白 5	80	10mM 组氨酸	1.0	44.5	7.1
F47	融合蛋白 6	80	10mM 组氨酸	1.0	44.5	7.1
F48	融合蛋白 7	80	10mM 组氨酸	1.0	44.5	7.1
F49	融合蛋白 8	80	10mM 组氨酸	1.0	44.5	7.1
F50	融合蛋白 9	80	10mM 组氨酸	1.0	44.5	7.1
F51	融合蛋白 10	80	10mM 组氨酸	1.0	44.5	7.1
F52	融合蛋白 11	80	10mM 组氨酸	1.0	44.5	7.1
F53	融合蛋白 12	80	10mM 组氨酸	1.0	44.5	7.1

实施例 3：不同防腐剂体系的考察

采用不同的防腐剂体系制备低浓度的注射液制剂，注射液中 GLP-1-Fc-FGF21 双靶融合蛋白（简称融合蛋白，即 API）的终浓度和各辅料的种类及其终浓度具体参见表 50，注射液的制备方法为：按照表 1 处方量称量辅料和 API 混合，必要时，使用 2% 的盐酸溶液或 2% 的氢氧化钠溶液将制剂 pH 调到相应的值，最后加注射用水定容。配液完后用 0.45μm 及 0.22μm PVDF 滤膜串联过滤药液到 1ml 细长预灌封注射器中，装量每支 1ml，塞上胶塞密封。然后将制剂进行稳定性研究，结果显示，各制剂均表现出较好的稳定性，SEC-HPLC 聚集体变化速率（天/%）均在可接受标准范围内，其均无可见颗粒的形成。

表 50：各制剂中各成分的配比

制剂	GLP-1-Fc-FGF21 双靶融合蛋白的 种类	融合蛋白的 浓度 (mg/ml)	缓冲体系及其用 量（10 mM）	聚山梨酯 80 的用量 (mg/ml)	甘露醇的用 量(mg/ml)	防腐剂	pH 值
A49	融合蛋白 I	10	10mM 组氨酸	1.0	46.4mg/ml	苯酚 4mg/mL	7.0
A50	融合蛋白 I	20	10mM 组氨酸	1.0	46.4mg/ml	苯酚 4mg/mL	7.0
A51	融合蛋白 I	10	10mM 柠檬酸盐	1.0	46.4mg/ml	苯酚 4mg/mL	7.0
A52	融合蛋白 I	20	10mM 柠檬酸盐	1.0	46.4mg/ml	苯酚 4mg/mL	7.0
A53	融合蛋白 I	20	10mM 柠檬酸盐	1.0	46.4mg/ml	间甲酚 3mg/mL	7.0
A54	融合蛋白 I	20	10mM 柠檬酸盐	1.0	46.4mg/ml	间甲酚 3mg/mL	7.0
F55	融合蛋白 I	40	10mM 组氨酸	1.0	44.5 mg/ml	苯酚 4mg/mL	7.0
F56	融合蛋白 I	60	10mM 组氨酸	1.0	44.5 mg/ml	苯酚 4mg/mL	7.0
F57	融合蛋白 I	40	10mM 柠檬酸盐	1.0	44.5 mg/ml	苯酚 4mg/mL	7.0
F58	融合蛋白 I	60	10mM 柠檬酸盐	1.0	44.5 mg/ml	苯酚 4mg/mL	7.0
F59	融合蛋白 I	40	10mM 组氨酸	1.0	44.5 mg/ml	间甲酚 3mg/mL	7.0
F60	融合蛋白 I	60	10mM 组氨酸	1.0	44.5 mg/ml	间甲酚 3mg/mL	7.0
F61	融合蛋白 I	60	10mM 组氨酸	1.0	44.5 mg/ml	苯酚 3.5 mg/mL、间甲酚 0.25~0.35 mg/mL	7.0

在本说明书的描述中，参考术语“一个实施例”、“一些实施例”、“示例”、“具体示例”、或“一些示例”等的描述意指结合该实施例或示例描述的具体特征、结构、材料或者特点包含于本发明的至少一个实施例或示例中。在本说明书中，对上述术语的示意性表述不必针对的是相同的实施例或示例。而且，描述的具体特征、结构、材料或者特点可以在任一个或多个实施例或示例中以合适的方式结合。此外，在不相互矛盾的情况下，本领域的技术人员可以将本说明书中描述的不同实施例或示例以及不同实施例或示例的特征进行结合和组合。

尽管上面已经示出和描述了本发明的实施例，可以理解的是，上述实施例是示例性的，不能理解为对本发明的限制，本领域的普通技术人员在本发明的范围内可以对上述实施例进行变化、修改、替换和变型。

权 利 要 求 书

1. 一种组合物，其特征在于，包括：
GLP-1-Fc-FGF21 融合蛋白和缓冲液。
2. 根据权利要求 1 所述的组合物，其特征在于，所述 GLP-1-Fc-FGF21 融合蛋白包含如 SEQ ID NO:1~12 所示的氨基酸序列：
- 任选地，所述 GLP-1-Fc-FGF21 融合蛋白在所述组合物中的浓度为 1~100mg/mL；
任选地，所述 GLP-1-Fc-FGF21 融合蛋白在所述组合物中的浓度为 2~80mg/mL；
任选地，所述 GLP-1-Fc-FGF21 融合蛋白在所述组合物中的浓度为 5~70mg/mL；
任选地，所述 GLP-1-Fc-FGF21 融合蛋白在所述组合物中的浓度为 2~55mg/mL；
任选地，所述 GLP-1-Fc-FGF21 融合蛋白在所述组合物中的浓度为 10~65mg/mL；
任选地，所述 GLP-1-Fc-FGF21 融合蛋白在所述组合物中的浓度为 20~60mg/mL；
任选地，所述组合物的 pH 值为 6.2~8.0，优选 6.4~8.0。
3. 根据权利要求 2 所述的组合物，其特征在于，所述缓冲液包括组氨酸缓冲液、柠檬酸盐缓冲液、磷酸盐缓冲液和 Tris 缓冲液中的至少之一；
- 优选地，所述缓冲液包括组氨酸缓冲液或柠檬酸盐缓冲液；
任选地，所述缓冲液在所述组合物中的浓度为 5~30mM；
任选地，所述缓冲液在所述组合物中的浓度为 5~25mM；
任选地，所述缓冲液在所述组合物中的浓度为 8~25mM；
任选地，所述缓冲液在所述组合物中的浓度为 5~20mM；
任选地，所述缓冲液在所述组合物中的浓度为 8~12mM；
优选地，所述缓冲液在所述组合物中的浓度为 10~20mM。
4. 根据权利要求 1 所述的组合物，其特征在于，所述组合物进一步包括渗透压调节剂、表面活性剂、防腐剂和金属螯合剂的至少之一；
- 任选地，所述渗透压调节剂包括甘露醇、蔗糖、海藻糖和氯化钠中的至少之一；
任选地，所述渗透压调节剂在所述组合物中的浓度为 30~100 mg/mL 或 1~10mg/mL；
任选的，所述表面活性剂包括聚山梨酯 80、聚山梨酯 20 和泊洛沙姆 188 中的至少之一；
任选地，所述表面活性剂在所述组合物中的浓度为 0.1~10 mg/mL，优选为 0.1~1.5 mg/mL 或 6~10mg/mL，更优选为 0.1~0.7 mg/mL；
任选地，所述防腐剂为苯酚、间甲酚中的至少之一；
任选地，所述防腐剂在所述组合物中的浓度为 0.1~10 mg/mL，优选为 1.0~5.0 mg/mL；
任选地，所述金属螯合剂为依地酸二钠、依地酸钙钠中的至少之一；
任选地，所述金属螯合剂在所述组合物中的浓度为 0.01~1 mg/mL，优选为 0.05~0.5 mg/mL。
5. 根据权利要求 1~4 任一项所述的组合物，其特征在于，所述缓冲液为组氨酸缓冲液，所述 GLP-1-Fc-FGF21 融合蛋白在所述组合物中的浓度为 25~100 mg/mL，优选为 25~95mg/mL、25~90mg/mL、25~85mg/mL；
- 任选地，所述缓冲液为组氨酸缓冲液，所述 GLP-1-Fc-FGF21 融合蛋白在所述组合物中的浓度为 25~80 mg/mL，优选为 25~55mg/mL；
- 任选地，所述组氨酸缓冲液在所述组合物中的浓度为 5~30mM，优选为 5~25mM、8~25mM、8~20mM，更优选为 10~20mM、8~12mM；

任选地, 所述组合物的 pH 值为 6.7~7.5, 优选为 6.9~7.5;

任选地, 所述渗透压调节剂为甘露醇, 所述渗透压调节剂在所述组合物中的浓度为 30~50 mg/mL;

或者

所述渗透压调节剂为蔗糖, 所述渗透压调节剂在所述组合物中的浓度为 60~100 mg/mL, 优选 80~100 mg/mL; 或者

所述渗透压调节剂为海藻糖, 所述渗透压调节剂在所述组合物中的浓度为 40~100 mg/mL, 优选 40~70 mg/mL, 更优选 50~70 mg/mL;

任选地, 所述表面活性剂为聚山梨酯 80, 所述表面活性剂在所述组合物中的浓度为 0.1~2 mg/mL, 优选为 0.1~1.5 mg/mL, 优选为 0.4~1.3 mg/mL; 或者

所述表面活性剂为聚山梨酯 20, 所述表面活性剂在所述组合物中的浓度为 0.1~1.5 mg/mL, 优选为 0.1~0.5 mg/mL。

6. 根据权利要求 1~4 任一项所述的组合物, 其特征在于, 所述 GLP-1-Fc-FGF21 融合蛋白在所述组合物中的浓度为 2~25mg/mL, 所述缓冲液为柠檬酸盐缓冲液;

任选地, 所述柠檬酸盐缓冲液在所述组合物中的浓度为 5~30 mM, 优选为 5~25mM、8~25mM、8~20 mM, 更优选为 10~20mM、8~12mM;

任选地, 所述组合物的 pH 值为 6.4~8.0;

任选地, 所述渗透压调节剂为甘露醇, 所述渗透压调节剂在所述组合物中的浓度为 30~50 mg/mL;

或者

所述渗透压调节剂为蔗糖, 所述渗透压调节剂在所述组合物中的浓度为 60~100 mg/mL, 优选 80~100 mg/mL; 或者

所述渗透压调节剂为海藻糖, 所述渗透压调节剂在所述组合物中的浓度为 40~100 mg/mL, 优选 40~70 mg/mL, 更优选 50~70 mg/mL;

所述渗透压调节剂为氯化钠, 所述渗透压调节剂在所述组合物中的浓度为 1~10 mg/mL, 优选 3~9mg/mL;

任选地, 所述表面活性剂包括聚山梨酯 80、聚山梨酯 20 和泊洛沙姆 188 中的至少之一, 优选为聚山梨酯 80;

任选地, 所述表面活性剂在所述组合物中的浓度为 0.1~10 mg/mL, 优选为 0.1~1.5 mg/mL、0.1~1.0 mg/mL 或 6~10 mg/mL;

任选地, 所述表面活性剂为泊洛沙姆 188, 所述表面活性剂在所述组合物中的浓度为 6~10 mg/mL; 或者

所述表面活性剂为聚山梨酯 80 或聚山梨酯 20, 所述表面活性剂在所述组合物中的浓度为 0.1~1.5 mg/mL, 优选为 0.1~0.5 mg/mL。

7. 根据权利要求 1~4 任一项所述的组合物, 其特征在于, 所述组合物的剂型为液体制剂, 优选为注射剂。

8. 一种注射液, 其特征在于, 包括:

GLP-1-Fc-FGF21 融合蛋白、组氨酸缓冲液、甘露醇和任选地依地酸二钠或依地酸钙钠, 以及聚山梨酯 80 或聚山梨酯 20;

所述 GLP-1-Fc-FGF21 融合蛋白包含如 SEQ ID NO:1~12 任一项所示的氨基酸序列, 所述 GLP-1-Fc-FGF21 融合蛋白在所述注射液中的浓度为 25~100 mg/mL, 优选为 25~95 mg/mL、25~90 mg/mL、25~85 mg/mL、25~80 mg/mL、25~75 mg/mL、25~70 mg/mL、25~65 mg/mL、25~60 mg/mL、25~55 mg/mL、

25~50 mg/mL;

所述组氨酸缓冲液在所述注射液中的浓度为 8-25 mM, 优选为 10~20 mM;

所述甘露醇在所述注射液中的浓度为 35~45 mg/mL;

所述聚山梨酯 80 在所述注射液中的浓度为 0.4~1.5 mg/mL、或 0.4~1.3 mg/mL, 或者所述聚山梨酯 20 在所述注射液中的浓度为 0.1~0.5 mg/mL;

所述金属螯合剂在所述注射液中的浓度为 0.05~0.5 mg/mL;

所述注射液的 pH 值为 6.9~7.5;

优选地, 所述的注射液不包含依地酸二钠或依地酸钙钠。

9. 一种注射液, 其特征在于, 包括:

GLP-1-Fc-FGF21 融合蛋白,

组氨酸缓冲液,

蔗糖或海藻糖,

聚山梨酯 80 或聚山梨酯 20, 以及

任选地依地酸二钠或依地酸钙钠;

所述 GLP-1-Fc-FGF21 融合蛋白包含如 SEQ ID NO:1~12 任一项所示的氨基酸序列, 所述 GLP-1-Fc-FGF21 融合蛋白在所述注射液中的浓度为 25~100 mg/mL, 优选为 25~95 mg/mL、25~90 mg/mL、25~85 mg/mL、25~80 mg/mL、25~75 mg/mL、25~70 mg/mL、25~65 mg/mL、25~60 mg/mL、25~55 mg/mL、25~50 mg/mL;

所述组氨酸缓冲液在所述注射液中的浓度为 8-25 mM, 优选为 10~20 mM;

所述蔗糖在所述注射液中的浓度为 85~95 mg/mL;

所述海藻糖在所述注射液中的浓度为 55~65 mg/mL;

所述聚山梨酯 80 在所述注射液中的浓度为 0.4~1.3 mg/mL, 或者所述聚山梨酯 20 在所述注射液中的浓度为 0.1~0.5mg/mL;

所述注射液的 pH 值为 6.9~7.5;

优选地, 所述的注射液不包含依地酸二钠或依地酸钙钠。

10. 一种注射液, 其特征在于, 包括:

GLP-1-Fc-FGF21 融合蛋白、柠檬酸盐缓冲液、蔗糖或海藻糖, 和任选地依地酸二钠或依地酸钙钠, 以及聚山梨酯 80 或聚山梨酯 20;

所述 GLP-1-Fc-FGF21 融合蛋白包含如 SEQ ID NO:1~12 任一项所示的氨基酸序列, 所述 GLP-1-Fc-FGF21 融合蛋白在所述注射液中的浓度为 25~100 mg/mL, 优选为 25~95 mg/mL、25~90 mg/mL、25~85 mg/mL、25~80 mg/mL、25~75 mg/mL、25~70 mg/mL、25~65 mg/mL、25~60 mg/mL、25~55 mg/mL、25~50 mg/mL;

所述柠檬酸盐缓冲液在所述注射液中的浓度为 8-25mM, 优选为 10~20 mM;

所述蔗糖在所述注射液中的浓度为 85~95 mg/mL;

所述海藻糖在所述注射液中的浓度为 55~65 mg/mL;

所述聚山梨酯 80 在所述注射液中的浓度为 0.4~1.3 mg/mL, 或者所述聚山梨酯 20 在所述注射液中的浓度为 0.1~0.5mg/mL;

所述注射液的 pH 值为 6.9~7.5;

优选地, 所述的注射液不包含依地酸二钠或依地酸钙钠。

11. 一种注射液, 其特征在于, 包括:

GLP-1-Fc-FGF21 融合蛋白、柠檬酸盐缓冲液、甘露醇和任选地依地酸二钠或依地酸钙钠，以及聚山梨酯 80 或聚山梨酯 20；

所述 GLP-1-Fc-FGF21 融合蛋白包含如 SEQ ID NO:1~12 任一项所示的氨基酸序列，所述 GLP-1-Fc-FGF21 融合蛋白在所述注射液中的浓度为 25~100 mg/mL，优选为 25~95 mg/mL、25~90 mg/mL、25~85 mg/mL、25~80 mg/mL、25~75 mg/mL、25~70 mg/mL、25~65 mg/mL、25~60 mg/mL、25~55 mg/mL、25~50 mg/mL；

所述柠檬酸盐缓冲液在所述注射液中的浓度为 8~25mM，优选为 10~20 mM；

所述甘露醇在所述注射液中的浓度为 35~45 mg/mL；

所述聚山梨酯 80 在所述注射液中的浓度为 0.4~1.5 mg/mL、或 0.4~1.3 mg/mL，或者所述聚山梨酯 20 在所述注射液中的浓度为 0.1~0.5 mg/mL；

所述金属螯合剂在所述注射液中的浓度为 0.05~0.5 mg/mL；

所述注射液的 pH 值为 6.9~7.5；

优选地，所述的注射液不包含依地酸二钠或依地酸钙钠。

12. 一种注射液，其特征在于，包括：

GLP-1-Fc-FGF21 融合蛋白、柠檬酸盐缓冲液、甘露醇、聚山梨酯 80 和任选地依地酸二钠或依地酸钙钠；

所述 GLP-1-Fc-FGF21 融合蛋白包含如 SEQ ID NO:1~12 任一项所示的氨基酸序列，所述 GLP-1-Fc-FGF21 融合蛋白在所述注射液中的浓度为 3~25 mg/mL；

所述柠檬酸盐缓冲液在所述注射液中的浓度为 5~20 mM，优选为 8~20 mM，优选为 10~15 mM；

所述甘露醇在所述注射液中的浓度为 40~50 mg/mL；

所述聚山梨酯 80 在所述注射液中的浓度为 0.1~1.5 mg/mL；

所述金属螯合剂在所述注射液中的浓度为 0.05~0.5 mg/mL；

所述注射液的 pH 值为 6.4~8.0；

优选地，所述的注射液不包含依地酸二钠或依地酸钙钠。

13. 一种注射液，其特征在于，包括：

GLP-1-Fc-FGF21 融合蛋白、柠檬酸盐缓冲液和聚山梨酯 80，以及蔗糖或海藻糖，和任选地依地酸二钠或依地酸钙钠；

所述 GLP-1-Fc-FGF21 融合蛋白包含如 SEQ ID NO:1~12 任一项所示的氨基酸序列，所述 GLP-1-Fc-FGF21 融合蛋白在所述注射液中的浓度为 3~25 mg/mL；

所述柠檬酸盐缓冲液在所述注射液中的浓度为 5~20 mM，优选为 8~20 mM，更优选为 10~15 mM；

所述蔗糖在所述注射液中的浓度为 85~95 mg/mL；

所述海藻糖在所述注射液中的浓度为 55~65 mg/mL；

所述聚山梨酯 80 在所述注射液中的浓度为 0.1~1.5 mg/mL；

所述注射液的 pH 值为 6.4~8.0；

优选地，所述的注射液不包含依地酸二钠或依地酸钙钠。

14. 一种注射液，其特征在于，包括：

GLP-1-Fc-FGF21 融合蛋白、组氨酸缓冲液、甘露醇、聚山梨酯 80 和任选地依地酸二钠或依地酸钙钠；

所述 GLP-1-Fc-FGF21 融合蛋白包含如 SEQ ID NO:1~12 任一项所示的氨基酸序列，所述 GLP-1-Fc-FGF21 融合蛋白在所述注射液中的浓度为 3~25 mg/mL；

所述组氨酸缓冲液在所述注射液中的浓度为 5-30 mM，优选为 10~20 mM；

所述甘露醇在所述注射液中的浓度为 40~50 mg/mL；

所述聚山梨酯 80 在所述注射液中的浓度为 0.1~1.5 mg/mL；

所述金属螯合剂在所述注射液中的浓度为 0.05~0.5 mg/mL；

所述注射液的 pH 值为 6.4~8.0；

优选地，所述的注射液不包含依地酸二钠或依地酸钙钠。

15. 一种注射液，其特征在于，包括：

GLP-1-Fc-FGF21 融合蛋白、组氨酸缓冲液和聚山梨酯 80，以及蔗糖或海藻糖，和任选地依地酸二钠或依地酸钙钠；

所述 GLP-1-Fc-FGF21 融合蛋白包含如 SEQ ID NO:1~12 任一项所示的氨基酸序列，所述 GLP-1-Fc-FGF21 融合蛋白在所述注射液中的浓度为 3~25 mg/mL；

所述组氨酸缓冲液在所述注射液中的浓度为 5-30 mM，优选为 10~20 mM；

所述蔗糖在所述注射液中的浓度为 85~95 mg/mL；

所述海藻糖在所述注射液中的浓度为 55~65 mg/mL；

所述聚山梨酯 80 在所述注射液中的浓度为 0.1~1.5 mg/mL；

所述注射液的 pH 值为 6.4~8.0；

优选地，所述的注射液不包含依地酸二钠或依地酸钙钠。

16. 根据权利要求 8-15 任一项所述的注射液，其特征在于，还包含防腐剂。

17. 根据权利要求 16 所述的注射液，其特征在于，所述防腐剂至少选自苯酚、间甲酚、苯甲醇、苯氧基乙醇之一；

任选地，所述苯酚在组合物或注射液中的浓度为 0~7 mg/mL，优选 3~7mg/mL；

任选地，所述间甲酚在组合物或注射液中的浓度为 0~4 mg/mL，优选 2-4mg/mL。

18. 权利要求 1~7 任一项所述的组合物或权利要求 8~17 任一项所述的注射液在制备药物中的用途，所述药物用于治疗 and/或预防代谢性疾病；

任选地，所述代谢性疾病包括糖尿病、高血脂肥胖和与脂肪肝相关的疾病；

任选地，所述脂肪肝相关的疾病包括非酒精性脂肪性肝病、非酒精性脂肪性肝炎、肝纤维化和肝硬化。

19. 一种治疗和/或预防代谢性疾病的方法，所述的方法包括给予受试者权利要求 1~7 任一项所述的组合物或权利要求 8~17 任一项所述的注射液在制备药物中的用途，所述药物用于治疗 and/或预防代谢性疾病；

任选地，所述代谢性疾病包括糖尿病、高血脂肥胖和与脂肪肝相关的疾病；

任选地，所述脂肪肝相关的疾病包括非酒精性脂肪性肝病、非酒精性脂肪性肝炎、肝纤维化和肝硬化。

20. 权利要求 1~7 任一项所述的组合物或权利要求 8~17 任一项所述的注射液用于治疗 and/或预防代谢性疾病；

任选地，所述代谢性疾病包括糖尿病、高血脂肥胖和与脂肪肝相关的疾病；

任选地，所述脂肪肝相关的疾病包括非酒精性脂肪性肝病、非酒精性脂肪性肝炎、肝纤维化和肝硬化。

21. 一种注射装置或容器，其特征在于，包括：

权利要求 1~7 任一项所述的组合物或权利要求 8~17 任一项所述的注射液；

任选地，所述注射装置或容器包括选自容纳瓶、西林瓶、卡式瓶和注射器中的至少之一；

优选地，所述注射器包括选自自动注射器和预填充注射器中的至少之一。